

Caracterización del polo anterior en pacientes tratados mediante trasplante allogénico de precursores hematopoiéticos



Carmen Alba Linero

Profesor José Manuel García Campos

Departamento de Radiología, Medicina Física, Otorrinolaringología y
Oftalmología
Universidad de Málaga

Este manuscrito se presenta para optar al título de
Doctor en Medicina


Facultad de Medicina

Abril 2017



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

AUTOR: Carmen Alba Linero

 <http://orcid.org/0000-0002-1671-3991>

EDITA: Publicaciones y Divulgación Científica. Universidad de Málaga



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional:

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/legalcode>

Cualquier parte de esta obra se puede reproducir sin autorización
pero con el reconocimiento y atribución de los autores.

No se puede hacer uso comercial de la obra y no se puede alterar, transformar o hacer
obras derivadas.

Esta Tesis Doctoral está depositada en el Repositorio Institucional de la Universidad de
Málaga (RIUMA): riuma.uma.es

Prof. Dr. D. José Manuel García Campos, Catedrático de Universidad adscrito al departamento de Radiología, Medicina Física, Otorrinolaringología y Oftalmología de la Universidad de Málaga.

CERTIFICA

Que Doña. Carmen Alba Linero, licenciada en Medicina y Cirugía por la Universidad de Málaga, ha realizado bajo nuestra dirección el trabajo de investigación titulado "caracterización del polo anterior en pacientes tratados mediante trasplante alogénico de precursores hematopoiéticos" y por creer que reúne las condiciones necesarias, lo autorizamos para que presente dicho trabajo como tesis, para obtener el grado de Doctor.

Y para que así conste, expedimos el presente en Málaga, a 10 de Abril de 2017.

A handwritten signature in blue ink, enclosed within a large, loopy oval. The signature appears to read "José M. García Campos".

Fdo. José Manuel García Campos



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

A mis padres y a mi hermano
A Javier



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

ÍNDICE GENERAL

	Página
Agradecimientos	IX
Índice de figuras	XI
Índice de tablas	XV
Abreviaturas	XVIII
1. Hipótesis y objetivos	1
1.1. Hipótesis	1
1.2. Objetivos	1
2. Introducción	3
2.1. Justificación	3
2.2. Contexto	3
2.2.1. Contexto global	3
2.2.2. Contexto particular	4
2.3. Trasplante alogénico de precursores hematopoiéticos	5
2.4. Enfermedad injerto contra huésped	6
2.4.1. Concepto	6
2.4.2. Epidemiología	7
2.4.3. Formas de presentación	8
2.4.4. Factores de riesgo	8
2.4.5. Fisiopatología	9
2.4.6. Clínica del EICH	12
2.4.7. Diagnóstico	14
2.4.8. Profilaxis	15
2.4.9. Tratamiento	16
2.4.10. Pronóstico	17

2.5. Enfermedad injerto contra huésped ocular	17
2.5.1. Clínica del EICH ocular	17
2.5.2. Diagnóstico	20
2.5.3. Tratamiento	26
3. Material y métodos	31
3.1. Sujetos	31
3.1.1. Ámbito de estudio	31
3.1.2. Sujetos de estudio	31
3.1.3. Selección de pacientes	32
3.2. Material	33
3.2.1. Material inventariable	33
3.2.2. Material fungible	33
3.2.3. Material bibliográfico	34
3.3. Metodología	34
3.3.1. Diseño experimental	34
3.3.2. Variables analizadas	35
3.3.3. Exploraciones realizadas	36
3.3.4. Procesado y análisis de las muestras de citología conjuntival para inmunohistoquímica y detección de linfocitos CD8	40
3.3.5. Procesado de datos	41
3.3.6. Aspectos éticos	43
4. Resultados	45
4.1. Estadística descriptiva	45
4.1.1. Hallazgos encontrados en la superficie ocular mediante microscopía óptica	45
4.1.2. Datos demográficos	46
4.1.3. Características de las variables en cada subgrupo	48
4.2. Análisis comparativos entre los diversos grupos	60
4.2.1. Rama 1: Análisis comparativo entre la visita 1 y 2 de pacientes del Grupo 1	61
4.2.2. Rama2 : Análisis comparativo entre sujetos con EICH ocular (Grupo 2) y sujetos sanos (Grupo 3)	75
4.2.3. Análisis comparativo entre pacientes con EICH ocular (Grupo 2) y pacientes tratados mediante TPH sin EICH ocular (Grupo 1)	90

Índice general	VII
5. Discusión	105
6. Conclusiones	113
Bibliografía	115



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

AGRADECIMIENTOS

Al Profesor García Campos, por su ayuda y comprensión en la elaboración de esta Tesis Doctoral.

A Rocío Lavado, por ser una guía en este laborioso camino de la investigación.

A la Dra. Martina Álvarez y al Dr. Luís Vicioso, por su colaboración en análisis inmunohistoquímico.

Al Servicio de Hematología del Hospital Regional de Málaga por su apoyo y su meritoria lucha con los pacientes con enfermedad injerto contra huésped, en especial a la Dra. María Jesús Pascual, Dra. Macarena Ortiz, Dr. Alejandro Contento y Dra. Alejandra Martín, así también como a su secretaria, Encarna.

A José Jerez por su ayuda en la elaboración estadística de este trabajo.

A mis compañeros del Servicio de Oftalmología, por su cariño durante todo este tiempo. En especial a la Dra. Marina Rodríguez, por anidar en mí la necesidad de este proyecto.

A mi Padre, por inculcarme la pasión por la Medicina y la inquietud investigadora. A mi Madre, por transmitirme la importancia de la constancia y el esfuerzo. A mi Hermano, por despertar en mí la curiosidad por la ciencia desde que éramos pequeños. A Javier, por su apoyo incondicional.

Y sobre todo, a los pacientes con enfermedades hematológicas. Sin ellos, nada de esto tendría sentido.



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

ÍNDICE DE FIGURAS

2.1. Fisiopatología enfermedad injerto contra huésped	11
2.2. Úlcera neurotrófica en paciente con EICH ocular.	19
2.3. Simbléfaron cicatricial en paciente con EICH ocular.	20
2.4. Tinción corneal con Fluoresceína, muestra queratitis punteada difusa. . . .	23
2.5. Tinción con verde de Lisamina.	24
3.1. Optotipo ETDRS	36
3.2. Test de OSDI	37
3.3. Mapa topométrico de Pentacam	38
3.4. Test de Schirmer	39
3.5. Escala de Oxford	40
3.6. Proceso de toma de muestra mediante citología de impresión	41
3.7. Citología conjuntival que muestra células epiteliales sin linfocitos	42
3.8. Citología conjuntival que muestra células epiteliales con infiltración linfocitaria CD8	42
4.1. Distribución de número de pacientes por grupos	46
4.2. Distribución de sexo por grupos	47
4.3. Distribución de edad por grupos	47
4.4. Comparación de AV OD mediante Test de Wilcoxon $p=0.08$	61
4.5. Comparación de AV OI mediante Test de Wilcoxon $p=0.35$	62
4.6. Comparación entre test de Schirmer OD mediante Test de Wilcoxon $p=0.5$.	63
4.7. Comparación de test de Schirmer OI mediante Test de Wilcoxon $p=0.8$. . .	63
4.8. Comparación de test de OSDI mediante Test de Wilcoxon $p=0.003$	64
4.9. Comparación entre paquimetrías centrales de OD mediante test T de Student $p=0.8$	65
4.10. Comparación entre paquimetrías centrales de OI mediante test T de Student OI $p=0.7$	66

4.11. Comparación de paquimetrías en el ápex de OD mediante T de Student $p=0.8$	66
4.12. Comparación entre paquimetrías del ápex OI mediante test T de Student $p=0.74$	67
4.13. Comparación de paquimetrías en punto más fino de OD mediante test T de Student OD $p=0.5$	67
4.14. Comparación de paquimetrías en punto más fino de OI mediante test T de Student OD $p=0.8$	67
4.15. Comparación de K1 en OD mediante test T de Student $p=0.44$	68
4.16. Comparación de K1 en OI mediante test T de Student $p=0.89$	69
4.17. Comparación entre K2 de OD mediante test T de Student $p=0.19$	69
4.18. Comparación entre K2 OI mediante test T de Student $p=0.91$	70
4.19. Comparación entre escalas de Oxford de OD mediante Test de Wilcoxon $p=0.01$	71
4.20. Comparación entre escalas de Oxford de OI mediante Test de Wilcoxon $p=0.05$	71
4.21. Comparación entre BUT test de OD mediante test T de Student $p=0$	72
4.22. Comparación entre BUT test de OI mediante test T de Student $p=0.0003$	72
4.23. Comparación entre muestras conjuntivales de OD según presencia o ausen- cia de linfocitos mediante Test de Fisher $p=0.03$	73
4.24. Comparación entre muestras conjuntivales de OI según presencia o ausencia de linfocitos mediante test de Fisher $p=0.01$	74
4.25. Comparación entre AV de OD mediante Test de Wilcoxon OD $p=0.0001$	75
4.26. Comparación entre AV OI mediante Test de Wilcoxon OD $p=0.0001$	76
4.27. Comparación entre test de Schirmer de OD mediante Test de Wilcoxon $p=0$	77
4.28. Comparación de test de Schirmer OI mediante Test de Wilcoxon $p=0.0005$	77
4.29. Comparación de test de OSDI mediante Test de Wilcoxon $p=0$	78
4.30. Comparación entre paquimetrías centrales de OD mediante test T de Stu- dent $p=0.99$	79
4.31. Comparación entre paquimetrías centrales de OI mediante test T de Student OI $p=0.98$	80
4.32. Comparación de paquimetrías en el ápex de OD mediante T de Student $p=0.99$	80
4.33. Comparación entre paquimetrías del ápex OI mediante test T de Student $p=0.98$	81
4.34. Comparación de paquimetrías en punto más fino de OD mediante test T de Student OD $p=0.99$	81
4.35. Comparación de paquimetrías en punto más fino de OI mediante test T de Student OD $p=0.99$	82

4.36.Comparación de K1 en OD mediante test T de Student $p=0.28$	83
4.37.Comparación de K1 en OI mediante test T de Student $p=0.14$	84
4.38.Comparación entre K2 de OD mediante test T de Student $p=0.86$	84
4.39.Comparación entre K2 OI mediante test T de Student $p=0.88$	85
4.40.Comparación entre escalas de Oxford de OD mediante Test de Wilcoxon $p=0$.	86
4.41.Comparación entre escalas de Oxford de OI mediante Test de Wilcoxon $p=0$	86
4.42.Comparación entre BUT test de OD mediante test T de Student $p=0$	87
4.43.Comparación entre BUT test de OI mediante test T de Student $p=0$	87
4.44.Comparación ente muestras conjuntivales de OD según presencia o ausencia de linfocitos mediante Test de Fisher $p=0.00004$	88
4.45.Comparación entre muestras conjuntivales de OI según presencia o ausencia de linfocitos mediante test de Fisher $p=0.00017$	88
4.46.Comparación entre AV de OD mediante Test de Wilcoxon OD $p=0.11$	90
4.47.Comparación entre AV OI mediante Test de Wilcoxon OD $p=0.07$	91
4.48.Comparación entre test de Schirmer de OD mediante Test de Wilcoxon $p=0.001$	92
4.49.Comparación de test de Schirmer OI mediante Test de Wilcoxon $p=0.00015$	92
4.50.Comparación de test de OSDI mediante Test de Wilcoxon $p=0.00005$	93
4.51.Comparación entre paquimetrías centrales de OD mediante test T de Student $p=0.5$	94
4.52.Comparación entre paquimetrías centrales de OI mediante test T de Student OI $p=0.86$	95
4.53.Comparación de paquimetrías en el ápex de OD mediante T de Student $p=0.54$	95
4.54.Comparación entre paquimetrías del ápex OI mediante test T de Student $p=0.78$	95
4.55.Comparación de paquimetrías en punto más fino de OD mediante test T de Student OD $p=0.69$	96
4.56.Comparación de paquimetrías en punto más fino de OI mediante test T de Student OD $p=0.58$	96
4.57.Comparación de K1 en OD mediante test T de Student $p=0.7$	97
4.58.Comparación de K1 en OI mediante test T de Student $p=0.08$	97
4.59.Comparación entre K2 de OD mediante test T de Student $p=0.73$	98
4.60.Comparación entre K2 OI mediante test T de Student $p=0.33$	99
4.61.Comparación entre escalas de Oxford de OD mediante Test de Wilcoxon $p=0.0001$	100
4.62.Comparación entre escalas de Oxford de OI mediante Test de Wilcoxon $p=0.003$	100

4.63. Comparación entre BUT test de OD mediante test T de Student $p=0.0001$. .	101
4.64. Comparación entre BUT test de OI mediante test T de Student $p=0.0001$. .	101
4.65. Comparación entre muestras conjuntivas de OD según presencia o ausencia de linfocitos mediante Test de Fisher $p=1$	102
4.66. Comparación entre muestras conjuntivas de OI según presencia o ausencia de linfocitos mediante test de Fisher $p=1$	103

ÍNDICE DE TABLAS

2.1. Clínica de EICH crónico	14
2.2. Estadía de EICH	15
2.3. Gradación global de enfermedad injerto contra huésped.	15
3.1. Variables analizadas	35
4.1. Estadística descriptiva de Grupo 1 antes y 100 días después del TPH	54
4.2. Representación de datos descriptivos en Grupo 2	57
4.3. Representación de datos descriptivos del Grupo 3	60
4.4. Presencia de Linfocitos CD8+ antes y después del TPH	73
4.5. Análisis comparativo Rama 1	74
4.6. Presencia de Linfocitos CD8 según EICH ocular	88
4.7. Análisis comparativo Rama 2	89
4.8. Presencia de Linfocitos CD8+ en EICH y en TPH sin EICH.	102
4.9. Análisis comparativo Rama 3	103



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

ABREVIATURAS

ATG	Anticuerpo Antitiroglobulina
AV	Agudeza Visual
BMDW	Bone Marrow Donor Worldwide
BUT	Break Up Time
CIBMTR	Center International Bone Marrow Trasplant Registry
CIMES	Centro de Investigación Médico-Sanitaria
CSA	Ciclosporine A
DALK	Deep Anterior Lamellar Keratoplasty
EBM	European Bone Marrow Trasplant Group
EICH	Enfermedad Injerto Contra Huésped
EICL	Efecto Injerto Contra Leucemia
ETDRS	Early Treatment Diabetic Retinopathy Study
FEV	First Espirated Volume
GELTAMO	Grupo Español de Linfoma y Trasplante de Médula Ósea
GETH	Grupo Español de Trasplante Hematopoiético
HLA	Human Leukocyte Antigen
IR	Intensidad Reducida
MMF	Micofenolato de Mofetilo

MO	Médula Ósea
MRT	Mortalidad Relacionada con el Trasplante
MTX	Metrotexate
NEI	National Eye Institute
NIH	National Institute of Health
NK	Natural Killer
NMDP	National Marrow Donor Program
OD	Ojo Derecho
OI	Ojo Izquierdo
ONT	Organización Nacional de Trasplantes
OSDI	Ocular Surface Disease Index
PROSE	Prosthetic replacement of Ocular Surface Ecosystem
SC	Superficie Corporal
TGF	Transforming Growth Factor
TNF	Tumoral Necrosis Factor
TPH	Trasplante de Precursores hematopoiéticos
VFQ	Visual Function Questionnaire

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1.1. Hipótesis

Existen cambios morfológicos y funcionales en la superficie ocular de pacientes tratados mediante trasplante alogénico de precursores hematopoiéticos (TPH) que pueden ser observados de forma preclínica, permitiendo el diagnóstico precoz y un mejor tratamiento de la Enfermedad Injerto contra Huésped Ocular .

1.2. Objetivos

1. Conocer los cambios inmunohistoquímicos en pacientes tratados con TPH mediante muestras tomadas por citología de impresión conjuntival.
2. Cuantificar la gravedad de sequedad ocular en pacientes tratados con TPH mediante test de Schirmer.
3. Conocer la calidad visual de pacientes tratados con TPH.
4. Investigar la aparición de los cambios en la superficie ocular en pacientes tratados con THP en relación con la posible aparición de una enfermedad injerto contra huésped crónica (EICH).
5. Comparar las características morfológicas y funcionales de la superficie ocular de pacientes tratados con TPH que presentan enfermedad injerto contra huésped ocular con respecto a una población sana.
6. Analizar las diferencias morfológicas y funcionales de la superficie ocular de pacientes tratados con trasplante de precursores hematopoiéticos que han desarrollado

enfermedad injerto contra huésped ocular con respecto a los que no la han desarrollado.

INTRODUCCIÓN

2.1. Justificación

Desde el punto de vista oftalmológico, la mayoría de pacientes que presentan complicaciones provienen de un estado de EICH crónico. Entre un 40-60 % diagnosticados de esta entidad desarrollan clínica ocular¹. Sin embargo, dichas complicaciones oftalmológicas y su impacto en la calidad de vida visual no están suficientemente estudiados² y es por ello que nos resulta interesante la caracterización de las repercusiones oculares en pacientes sometidos a trasplante alogénico de precursores hematopoiéticos. Las principales manifestaciones clínicas que apreciamos en el ojo se dan en el polo anterior, siendo la más frecuente la queratoconjuntivitis sicca³. Así, aunque se hace una exploración completa oftalmológica de cada paciente, este trabajo se detiene en los parámetros que se ven afectados en los trastornos de la superficie ocular.

Consideramos que la importancia de esta tesis doctoral reside en la oportuna caracterización de los efectos del Trasplante de Precursores Hematopoiéticos sobre la superficie ocular para la detección precoz de signos oftalmológicos subsanables en los sujetos con enfermedades hematológicas que precisan de él, y así evitar complicaciones oculares irreversibles.

2.2. Contexto

2.2.1. Contexto global

Las neoplasias malignas de la sangre han sufrido un incremento en incidencia y prevalencia en los últimos años en el mundo desarrollado. Se estima que el incremento

anual será de 81.080 nuevos casos de linfoma, 30.330 de mieloma y 60.140 de leucemias en EEUU⁴.

El trasplante alogénico de precursores hematopoiéticos (TPH) es cada vez más utilizado para el tratamiento de estas enfermedades malignas⁵.

La media de trasplantes alogénicos al año es en E.E.U.U. de 50.000, en Europa de 14.000 y en España de 1.700 según los datos de la ONT (organización nacional de trasplantes).

En España se realizaron durante el año 2015 un total de 1188 trasplantes alogénicos de precursores hematopoiéticos, 732 casos con donante procedentes de un familiar y 456 con donante procedente de un no familiar.

El TPH está indicado en el tratamiento de diversos trastornos linfoproliferativos como leucemias mieloides y linfoides, mieloma múltiple y linfomas, así como de otras discrasias sanguíneas como la aplasia medular, drepanocitosis y otros problemas de origen inmunológico.

Sin embargo, el trasplante alogénico de médula ósea tiene que ser adecuadamente indicado ya que, aunque sólo el 10% de los pacientes presentan muerte directa por el trasplante, el 40% presentan complicaciones entre las cuales la más frecuente es la Enfermedad Injerto contra Huésped (EICH)⁵.

Por tanto, aunque el TPH se considera el Gold Standard para el tratamiento de enfermedades hematológicas, es necesario encontrar el equilibrio entre la curación y el no desarrollo de EICH⁶.

2.2.2. Contexto particular

El Servicio de Hematología del HRU Málaga abarca los pacientes trasplantados de precursores hematopoiéticos de la provincia de Málaga y Almería, y de las ciudades autónomas de Ceuta y Melilla.

Durante el año 2015 se realizaron 119 Trasplantes de precursores hematopoiéticos, de los cuales 57 fueron alogénicos. De estos pacientes únicamente 8 (14%) desarrollaron Enfermedad Injerto Contra Huésped Crónica moderada/grave.

La incidencia de EICH en el año 2016 en nuestro centro ha sido del 23% para la forma aguda y del 9% para la forma crónica.

En los meses que llevamos de 2017 la tasa de EICH agudo ha sido del 18% (3 de 16 TPH alogénicos realizados). Aún no ha tenido lugar la aparición de ningún caso de EICH crónico ni afectación ocular.

La bajada de incidencia en los últimos años se debe al uso de Ciclofosfamida pre y post TPH (niveles sanguíneos de 200-300 ng/mL) en contraposición a la profilaxis con Tacrólimus y Sirólimus usada previamente.

Sin embargo, aunque no fueron catalogados como EICH, la mayoría de los pacientes desarrollaron cambios en la superficie ocular como disminución de la secreción lagrimal, queratitis de repetición o blefaritis, lo cual se ve traducido a una serie de síntomas oculares como escozor, picor y disminución visual que tuvieron repercusión en la calidad de vida.

2.3. Trasplante alogénico de precursores hematopoiéticos

El trasplante hemopoiético (TH) es un procedimiento médico altamente especializado y complejo. Dentro del trasplante hematopoiético existen dos modalidades: Trasplante Autólogo y Trasplante Alogénico⁷. En el trasplante Autólogo las células progenitoras infundidas son las del propio enfermo; este procedimiento permite la administración de altas dosis de quimioterapia evitando la aplasia prolongada. La otra modalidad es el Trasplante Alogénico, en el que las células progenitoras infundidas son las de un donante emparentado o no emparentado. Es el tratamiento de elección de muchas enfermedades malignas y no malignas -congénitas y adquiridas- del sistema hematopoiético. Durante las últimas décadas el TH ha evolucionado desde un procedimiento experimental hasta convertirse en la terapéutica estándar de muchas enfermedades neoplásicas como Leucemias, Síndromes Mielodisplásicos, Linfomas, Mieloma Múltiple y otras hereditarias, inmunes o genéticas como Talasemia, Anemia Aplásica, enzimopatías etc.⁵.

El primer trasplante alogénico lo realizó E. Donnall Thomas en 1957. Desde entonces, este procedimiento se ha incrementado exponencialmente, incorporando nuevas indicaciones ya aceptadas o en investigación, que incluyen enfermedades no neoplásicas -congénitas y adquiridas como las inmunodeficiencias, anemias, enfermedades metabólicas y autoinmunes- siendo la indicación más frecuente las neoplásicas hematológicas.

Los primeros trasplantes alogénicos se realizaron a partir de médula ósea (MO) de hermanos gemelos; aunque posteriormente el conocimiento más profundo del Sistema HLA (antígenos leucocitarios humanos) permitió crear los registros de donantes de forma que en la actualidad, existen más de 20 millones de donantes no emparentados. Ello posibilita que más de la mitad de los trasplantes en pacientes que no tienen un donante familiar HLA idéntico se realicen a partir de un donante no emparentado⁶. Además, con la utilización de los factores de crecimiento, la donación de sangre periférica está sustituyendo a la MO como fuente de progenitores⁸.

Hitos históricos del trasplante hematopoiético

- **1977:** se reportan los primeros 100 trasplantes alogénicos y los primeros autólogos.

- **1978:** primeros trasplantes autólogos para el tratamiento de linfomas. Se crea el European Bone Marrow Transplant Group (EBMT). Se realiza el primer trasplante con sangre periférica.
- **1980:** se publican los primeros datos de CSA en la profilaxis de EICH.
- **1986:** se crea en EEUU el National Marrow Donor Program(NMDP).
- **1988:** se crea en Europa el Bone Marrow Donor Worldwide(BMDW).
- **1989:** primer trasplante alogénico de sangre periférica y primer trasplante de cordón umbilical.
- **1989:** primer trasplante alogénico realizado en Málaga.
- **1990:** primera infusión de linfocitos para tratar recaída de leucemias. D. Thomas recibe el Premio Nobel de Medicina.
- **1990:** se crea en España el Grupo Español de Linfomas/Trasplante de Médula (Grupo GELTAMO).
- **1994:** se crea en España el Grupo español de Trasplante (GETH). Se crea en EEUU el CIBMTR (Center International Bone Marrow Transplant Registry)

En los últimos años la mortalidad relacionada con el trasplante (MRT), que sigue siendo la primera causa de fracaso de este procedimiento después de la recaída, se ha reducido gracias a los avances tratamiento de soporte, con mejor control de las infecciones y de la enfermedad injerto contra huésped (EICH), así como al uso de Regímenes de Acondicionamiento de Intensidad Reducida (IR), lo que ha permitido además ofrecer el trasplante a pacientes mayores de 60 años o con comorbilidades. Sin embargo, la EICH y las recaídas por fracaso del Efecto Injerto Contra Leucemia (EICL) siguen siendo un reto en el trasplante; el mejor conocimiento de los mecanismos biológicos de la EICH y de la célula neoplásica hará que, en los próximos años, el trasplante se realice de una forma más individualizada y eficaz.

2.4. Enfermedad injerto contra huésped

2.4.1. Concepto

La enfermedad injerto contra huésped es la complicación principal de los trasplantes alogénicos de órganos hematopoiéticos.

Ocurre entre un 30 y 70 % de los pacientes sometidos a trasplantes de hermanos HLA idénticos. Su incidencia es muy variable y dependiente de los factores de riesgo implicados⁹.

Puede presentarse tras trasplante de médula ósea, transfusiones sanguíneas, neonatos sometidos a exanguinotrasfusiones o fetos que han recibido linfocitos maternos

En 1959, Billingham y Bent¹⁰ describen por primera vez cómo la inyección de esplenocitos a ratones de camadas diferentes provocan la “runt disease”, que se asemeja a lo que hoy conocemos como EICH. “La primera manifestación de la enfermedad consiste en el adelgazamiento y pérdida de elasticidad de la piel con eritema en palmas, plantas y orejas, aparecerán áreas de exfoliación y déficit en la ganancia de peso”

Billingham, en 1966, describió los criterios que deben cumplirse para el criterio diagnóstico de esta entidad¹¹.

- El injerto debe tener células inmunocompetentes
- Los antígenos de los tejidos del huésped deben ser diferentes a los del donante.
- El receptor deberá estar inmunocomprometido

Las diferencias antigénicas entre el huésped y el donante favorecen la batalla inmunológica basada principalmente en Linfocitos T, en la que se liberan una serie de mediadores que desarrollan daño tisular¹². Los principales órganos afectados son el tubo digestivo, la piel y el hígado. La enfermedad injerto contra huésped es, por tanto, una complicación temida a ser considerada previa al trasplante y ante la que se deben usar todos los métodos de profilaxis y tratamiento. Esta enfermedad genera en torno a un 30 % de mortalidad de los pacientes sometidos a TPH³.

2.4.2. Epidemiología

La enfermedad injerto contra huésped aguda en los primeros tres meses tras TPH se desarrolla entre un 30 % de pacientes con HLA idénticos frente a un 70 % con HLA no idéntico¹³. Menos del 50 % de este grupo de pacientes tiene una respuesta rápida y satisfactoria a corticosteroides, aunque sólo un 30 % se hace resistente a dicha terapia¹⁴. El 90 % de los pacientes resistentes a altas dosis de corticoides fallecen. Del 70 % que sobreviven a los 100 días tras TPH (supervivientes a la fase aguda), un 20-75 % desarrollan la forma crónica de EICH¹. El análisis de la bibliografía muestra que un 35 % de la EICH crónica es de novo (sin EICH aguda previa), un 30-40 % ocurre tras EICH aguda resuelta y un 20-40 % ocurre en el contexto de una EICH aguda sin resolución¹⁵. Estas cifras son

controvertidas debido a que los criterios diagnósticos de enfermedad injerto contra huésped no están claramente delimitados. Harris et al.¹⁶ publicaron los criterios diagnósticos de cara al inicio terapéutico corticoideo. Estos criterios serán expuestos posteriormente.

2.4.3. Formas de presentación

EICH agudo

Históricamente se ha definido como EICH agudo aquel que se presentaba antes de los 100 días¹⁶. Suele aparecer entre el día +7 y +20 después del trasplante. En la actualidad los criterios de presentación se basan más en la clínica e histología que en la cronología de la enfermedad. De esta forma el EICH agudo se divide en los siguientes¹⁷:

- **EICH agudo clásico:** implicación cutánea (rash maculopapular), gastrointestinal (náuseas, vómitos, anorexia, diarrea) o hepática (colestasis) durante los primeros 100 días tras TPH.
- **EICH persistente, recurrente o agudo tardío:** afectación similar a la forma clásicamente aguda pero transcurridos los 100 días tras trasplante y sin evidencia de EICH crónico. Suele ocurrir al interrumpir el régimen inmunosupresor.

EICH crónico

Clásicamente se asignaba a la forma crónica todos los síntomas que cursaban tras 100 días del TPH. En la actualidad se clasifica de la siguiente manera:

- **EICH crónico clásico:** cambios fibróticos y cicatriciales en piel, hígado, sistema gastrointestinal, pulmón y ojos después de 100 días de TPH.
- **Síndrome de solapamiento :** manifestaciones de la forma aguda y crónica solapadas, tras 100 días del TPH¹⁸.

2.4.4. Factores de riesgo

Aunque el desarrollo de EICH es a menudo impredecible e inevitable, hay determinados factores modificables sobre los cuales podemos actuar para prevenir el EICH agudo¹⁹. Como los pacientes con EICH crónico han desarrollado casi en su totalidad EICH agudo estos factores inciden en ambos grupos⁶. Las características que predisponen por orden de importancia son las siguientes^{20 21}:

- Disparidad de HLA minor ^{* 22}
- Mayor edad
- Sexo masculino
- Trasplante de individuo de sexo femenino a individuo de sexo masculino
- Trasplante de células de sangre periférica
- Mayor tiempo de régimen condicionante previo a TPH.
- Enfermedad de base

2.4.5. Fisiopatología

La fisiopatología de la enfermedad injerto contra huésped guarda un mecanismo complejo. Es una enfermedad inmunológica provocada por la interacción entre el donante y el receptor, mediante respuestas innatas y adaptativas donde cobran mayor importancia los linfocitos T CD4+ y CD8+¹⁷.

EICH agudo

La enfermedad injerto contra huésped aguda es una versión exagerada de la respuesta inmunitaria natural hacia antígenos desconocidos. El régimen condicionante previo al trasplante constituye una estimulación para los tejidos del receptor que promueven la proliferación de señales en el donante. Esta respuesta inflamatoria desorbitada se puede dividir en varias fases²³.

Fase I: Efectos del régimen condicionante

El primer paso para el desarrollo de EICH se lleva a cabo antes del trasplante: el régimen condicionante y la enfermedad de base provocarán la sobreexposición de antígenos del huésped con la posterior activación de las células presentadoras de antígenos pertinente. Esto explica por qué los pacientes con una leucemia severa o un régimen condicionante mayor tienen más riesgo de presentar EICH^{24 25}. Además, el régimen condicionante altera la mucosa gastrointestinal y aumenta los estímulos inflamatorios a este nivel haciendo

*Los antígenos leucocitarios humanos forman el complejo mayor de histocompatibilidad, seña de identidad de cualquiera de las células de un sujeto. El HLA se compone de unas proteínas básicas (HLA mayor) y otra serie de proteínas menos características del individuo (HLA minor) En la selección de donante se busca compatibilidad de HLA mayor, pero es imposible conseguir compatibilidad 100% de HLA minor.

más fácil la presentación de antígenos en el tejido, ya que las señales pro-inflamatorias en los tejidos favorecen la proliferación de células dendríticas en el huésped²⁶.

Fase II: Activación de linfocitos T

La fase de activación de los linfocitos T es la fase crucial para el desarrollo de la enfermedad y cursa de la siguiente manera²⁷:

Para el desarrollo de la EICH se requiere que las células inmunocompetentes del injerto reconozcan proteínas del complejo mayor de histocompatibilidad del huésped no expresadas en el donante, siendo también importantes las discrepancias a nivel de antígenos menores de histocompatibilidad (mHA) en caso de sujetos HLA idénticos. Los mHA se definen como aloantígenos capaces de generar una respuesta linfocitaria T entre sujetos HLA idénticos y son péptidos derivados de proteínas intracitoplasmáticas polimórficas que pueden presentarse en la membrana celular asociados a moléculas HLA de clase I o II²⁸. Una vez que el antígeno ha sido procesado y presentado por las células dendríticas, la interacción del complejo HLA-antígeno con el receptor TCR-CD3 conduce a la activación de señales intracitoplasmáticas que finalmente provocan la activación linfocitaria.²⁹ Las citoquinas más importantes en este proceso son la Interleuquina 1, el TNF alfa (tumoral necrosis factor), INF gamma, Interleuquina 6, Interleuquina 21 e Interleuquina 22³. Este paso ha sido durante muchos años la diana de la profilaxis del EICH. Sin embargo, más recientemente han cobrado importancia la vía de Linfocitos T reguladores-CD4 ayudados mediante la interleukina 2³⁰. El interferón gamma también juega un papel muy importante, aumentando los receptores de citoquinas implicadas y favoreciendo la presentación de antígenos mediante la estimulación de monocitos y macrófagos. En contraposición la interleuquina 10 y el TGF-b (transforming growth factor) secretado por los linfocitos T reguladores podrían suprimir la presentación de antígenos disminuyendo la probabilidad de EICH agudo aunque podrían estar implicados en el desarrollo de EICH crónico¹⁷.

Fase III: Fase efectora

La fase efectora se basa en la liberación de mediadores y proliferación celular que conllevan a inflamación y destrucción de los tejidos. Las células que se implican más frecuentemente son los linfocitos T citotóxicos (CD8) y los Natural Killer (NK). Los mediadores principales son el INF gamma, Interleuquina 1, ácido nítrico y TNF alfa³¹. El TNF alfa puede ser producido por el donante y el receptor; induce la apoptosis en tejidos diana; activa los linfocitos B, linfocitos T, macrófagos, neutrófilos y eosinófilos, estimulando

a su vez otras citoquinas como la Inteleuquina 1, Interleuquina 6, Interleuquina 10 e Interleuquina 12³².

EICH crónico

La fisiopatología del EICH crónico no está claramente definida. La teoría más aceptada es el funcionamiento aberrante del sistema inmune en un organismo que ha sufrido desajustes previos por EICH agudo, enfermedad de base y tratamientos concurrentes. La inadecuada función tímica que todo esto provoca, favorece la circulación de linfocitos autoreactivos que reaccionan contra los propios tejidos del huésped, de una forma similar a las enfermedades autoinmunes. En el EICH crónico los mediadores liberados conducen a un aumento de la expresión de fibroblastos llevando a la fibrosis y destrucción de los tejidos³³. Se ha observado una disminución del EICH crónico en pacientes que han sido sometidos a una depleción de linfocitos T con fármacos como alentuzumab o globulina antitimocítica. Estos pacientes comparten con los pacientes de enfermedades autoinmunes la disminución de células T reguladoras⁶. Las fases del proceso fisiopatológico del EICH se pueden resumir en la Figura 2.1:

Implicación de linfocitos B

Se sospecha que la enfermedad injerto contra huésped crónica está relacionada con el equilibrio alterado de células B, sobre todo con el aumento de células B de memoria. El

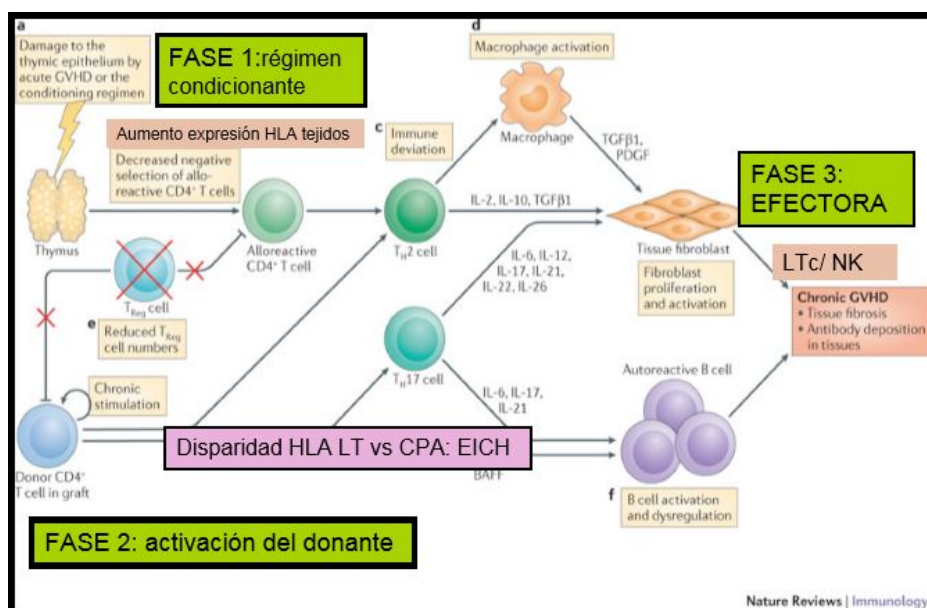


Figura 2.1 Fisiopatología enfermedad injerto contra huésped

factor de activación de sobreexpresión de células B (BAFF) al estar aumentado en el EICH crónico, induce un aumento de células B autoreactivas, lo que es en sí una enfermedad autoinmune¹⁷.

2.4.6. Clínica del EICH

Como los tejidos afectados son prácticamente los mismo en el EICH agudo que en el crónico, hemos desglosado la clínica según el órgano comprometido³⁴.

Piel

La piel es el principal tejido afectado en la enfermedad injerto contra huésped. El 81 % de pacientes con EICH agudo presentan afección cutánea¹⁷. En las formas agudas podemos encontrar rash cutáneo y eritema, es característico que las lesiones son muy pruriginosas. En EICH crónico puede haber poiquilodermia, liquen plano, esclerodermia, morfea y vitíligo.

Anejos cutáneos

Las principales afectaciones son:

- Uñas: Se da de forma muy frecuente la afectación ungueal como onicolisis, pterigium unguis, pérdida de brillo y moteado difuso.
- Cuero cabelludo: Podemos encontrar alopecia (cicatricial y no cicatricial), pérdida de brillo y de la cantidad del cabello.

Mucosa bucal

En la mucosa bucal se dan lesiones variadas como líquen plano, leucoplaquia, xerosis, mucocele, atrofia de la mucosa, infiltración por VHS, gingivitis y mucositis.

Mucosa genital

Las lesiones genitales son parecidas a las de la mucosa oral, se ven zonas de leucoplaquia, líquen plano, lesiones cicatriciales en vulva y clítoris, etc...

Sistema gastrointestinal

El sistema gastrointestinal está implicado debido al daño tisular previo a trasplante en la fase de régimen condicionante, a la medicación a la que el sujeto es expuesto y a la propia enfermedad injerto contra huésped en sí misma¹⁶. El 54 % de los pacientes con EICH aguda presentan alteración gastrointestinal¹⁷. Podemos encontrar anillo esofágico,

síndrome constitucional, malabsorción, diarrea, vómitos, dolor abdominal, anorexia, sangrado e íleo. El diagnóstico diferencial incluye: toxicidad gastrointestinal inducida por el régimen de acondicionamiento o infecciones víricas o bacterianas, por lo que es necesario realizar estudios microbiológicos seriados. Los hallazgos endoscópicos son variables y a menudo inespecíficos, desde la normalidad al edema y al despegamiento de la mucosa; las lesiones pueden ser más prominentes en el ciego, íleon y colon ascendente pero pueden afectar también al estómago, duodeno y recto. La biopsia es obligatoria para el establecer el diagnóstico definitivo de EICH digestiva. Una reciente propuesta de clasificación de la EICH permite discriminar pacientes con diferente probabilidad de responder al tratamiento inicial con esteroides, lo que sería útil para plantear estrategias terapéuticas alternativas en pacientes con escasas probabilidades de respuesta. Pues bien, que la afectación del tubo digestivo se acompañe de sintomatología “alta” (anorexia, dispepsia, náuseas y vómitos, sin diarrea) o “baja”, es una de las variables que permite discriminar estos grupos de riesgo, ya que la afectación alta, más frecuente, es también menos severa y habitualmente la que mejor responde el tratamiento³⁵.

Hígado

El hígado se ve más afectado en las fases crónicas del EICH, suele cursar con hepatitis virales (más frecuentemente por la inmunosupresión concomitante), obstrucción de la vía biliar y elevación de la bilirrubina, fosfatasa alcalina y transaminasas³⁶. El 51 % de los pacientes con EICH tiene afectación hepática³⁷. El diagnóstico diferencial incluye: enfermedad veno-oclusiva hepática, infección (generalmente por virus), sepsis y toxicidad por fármacos como Metotrexate (MTX), Ciclosporina-A (CSA) y Tacrolimus. Es infrecuente el fallo hepático debido únicamente a EICH aguda y así, la presencia de hipoalbuminemia debe hacer sospechar afectación del tubo digestivo o balance nitrogenado negativo más que insuficiencia hepática. La biopsia solo será necesaria en aquellos casos en los que no haya manifestaciones de EICH en otros órganos aunque si ésta es necesaria, los cambios histológicos observados en los conductos biliares son característicos.

Pulmón

Cooke et al.³⁸ demostraron la afectación pulmonar en forma de bronquiolitis, vasculitis y neumonía aguda. La patología pulmonar del EICH suele cursar con patrones restrictivos, con su consecuente disminución de FEV (volumen espirado en el primer segundo)

Sistema hematopoiético

Podemos encontrar linfopenia (<500/mL), eosinofilia (>500/mL), hipogammaglobulinemia o trombocitopenia (<100.000/mL)

ÓRGANO	DIAGNÓSTICO	CARACTERÍSTICAS	OTROS	COMUNES
Piel	Poiquilodermia Liquen Liquen plano Morfea	Despigmentación	Hipo/Hiper pigmentación Ictiosis Cambios sudoración	Eritema Rash Prurito
Uña		Distrofia Onicosis Estrías Pérdida ungueal		
Cuero Cabelludo		Alopecia Lesiones pápuloescamosas	Pelo fino Canas precoces	
Boca	Liquen plano Esclerosis Hiperqueratosis	Xerostomía Mucocela Atrofia mucosa Úlceras		Gingivitis Mucositis Eritema Dolor
Ojos		Conjuntivitis sicca Queratitis punctata Sensación de cuerpo extraño	Fotofobia Blefaritis	
Genitales	Liquen plano Estenosis vaginal	Erosiones Fisuras Úlceras		
Tracto GI	Liquen plano Estenosis esofágica		Insuficiencia pancreática exocrina	Náuseas Vómitos Diarrea Pérdida de peso
Hígado				Aumento X2 Bilirrubina, FA, GOT, GPT
Pulmones	Bronquiolitis obliterante diagnosticada por biopsia	BO diagnosticada por PFR o Radiología		
Ap. Locomotor	Fascitis Rigidez articular	Miositis Polimiositis	Edema Calambres Artralgias	
Sistema Hematopoyético			Trombocitopenia Linfopenia Eosinofilia TPI	
Otros			Derrame pleura o pericárdico Ascitis Polineuropatía Síndrome nefrótico Miastenia Gravis Arritmia	

Tabla 2.1 Clínica de EICH crónico

Otros

Se han descrito otras afecciones que cursan en el entorno de un EICH como serositis, miastenia gravis, raynaud, neuropatía periférica o glomerulonefritis.

Los síntomas propios de la afectación crónica están representados claramente determinados en la tabla 2.1.

2.4.7. Diagnóstico

La confirmación del diagnóstico de EICH es histopatológica y por tanto es obtenida por biopsia tisular. Sin embargo, se puede hacer una aproximación clínica según el grado de afectación cutánea, hepática a intestinal, tal y como se refleja en la tabla 2.2.

ÓRGANO	GRADO 1	GRADO 2	GRADO 3	GRADO 4
Piel		Rash <25 % SC	Rash 25-50 % SC	Rash >50 % SC con bullas
Hígado	Bilirrubina 2-3 mg/dL	Bilirrubina 3.1-6 mg/dL	Bilirrubina 6.1-15 mg/dL	Bilirrubina >15 mg/dL
Intestino	Diarrea >500 mL/día	Diarrea >1000 mL día	Diarrea >1500 mL/día	Diarrea >2000/día o dolor abdominal severo

Tabla 2.2 Estadiaje de EICH

GRADO TOTAL	PIEL	HÍGADO	INTESTINO	ECOG
I Leve	1-2	0	0	0
II Moderado	1-3	1	1	0-1
III Severo	2-3	2-4	2-3	2-3
IV Peligro de muerte	2-4	2-4	2-4	3-4

Tabla 2.3 Gradación global de enfermedad injerto contra huésped.

Así mismo, es posible realizar un estadiaje en función de la gradación de estos tres órganos afectados (ver tabla 2.3).

2.4.8. Profilaxis

Desde su introducción en la década de los 80, la combinación de ciclosporina (CsA) y metotrexate (MTX) se ha convertido en la aproximación estándar y la más frecuentemente utilizada para prevenir la enfermedad injerto contra huésped. Sin embargo, el avance en el conocimiento de los mecanismos implicados en su desarrollo está permitiendo el diseño de fármacos que están demostrando una eficacia notable, tanto desde el punto de vista profiláctico como terapéutico. Teniendo en cuenta las distintas fases de la EICH, se pueden diseñar estrategias encaminadas a la prevención (actuando fundamentalmente sobre las fases I y II) o el tratamiento (manipulando las fases II y III) de la misma. Obviamente, el factor más importante para prevenir la EICH es la elección del donante más adecuado, teniendo en cuenta el grado de compatibilidad HLA, la edad y el sexo del donante, entre otros factores. En relación con el primero de ellos, la compatibilidad HLA, numerosos estudios han confirmado que, en el contexto del trasplante alogénico de donante no emparentado, la identidad en 8 antígenos (o alelos) A, B, C y DRB1 entre donante y receptor permite alcanzar unos resultados clínicos similares a los del trasplante de donante emparentado. Por cada disparidad en cada uno de estos 8 locus la supervivencia cae un 10%, si bien esta diferencia únicamente se produce en pacientes en fase precoz de la enfermedad, mientras que en fases más avanzadas las diferencias son menores. El estudio

de 10 (incluyendo DQB1) o 12 locus (DPB1) podría ser de utilidad en aquellas situaciones en las que existen varios donantes disponibles^{39,40}.

La combinación de CsA/MTX constituye aún en la actualidad la pauta de profilaxis estándar. Frente a ésta, se han comparado otras estrategias como tacrolimus/MTX que permitió reducir el riesgo de EICH en trasplante de donante no emparentado sin impacto significativo en la supervivencia y con un mayor riesgo de recaída en trasplante de donante emparentado (en pacientes en fase avanzada de la enfermedad), la combinación de inhibidor de calcineurina (CNI), sea CsA o tacrolimus más metotrexate, representa el “gold standard” en la actualidad⁴⁰.

La adición de ATG (Anticuerpos Anti Tiroglobulina) a la profilaxis de EICH se ha evaluado en numerosos estudios prospectivos aleatorizados, llegando a la conclusión común a todos ellos que permite reducir de manera significativa el riesgo de EICH aguda y sobre todo crónica y, por tanto, con un impacto favorable en la calidad de vida postrasplante, pero sin incrementar la supervivencia a largo plazo e incluso con descenso de la misma en algún estudio en el contexto del trasplante de intensidad reducida⁴¹.

2.4.9. Tratamiento

La terapéutica estandar de la enfermedad injerto contra huésped continúa siendo los esteroides. En cuanto a la dosis, un estudio reciente ha comparado la dosis estándar de 6-metil-prednisonola (2 mg/kg/día) frente a dosis más bajas, concluyendo que la eficacia podría ser similar⁴². Además del sistémico, el tratamiento tópico constituye una herramienta clave para el control de la sintomatología sin tener que recurrir al incremento de tratamiento inmunosupresor; en este sentido, la beclometasoma dipropionato ha mostrado su eficacia en estudios prospectivos randomizados en combinación con dosis bajas de 6-metil-prednisolona, aumentando la tasa de respuestas e incluso la supervivencia a un año en pacientes con EICH agudo digestivo e incluso permite obtener un elevado porcentaje de respuestas en ausencia de tratamiento sistémico con esteroides^{43,44}. Diversos estudios han intentado, tanto en EICH agudo como crónico, asociar un segundo fármaco inmunosupresor a los esteroides dentro de la primera línea de tratamiento con el fin de incrementar la tasa de respuestas; desafortunadamente, todos ellos han fracasado. Esto constituye un severo problema para los pacientes corticoreistentes¹⁶.

También se ha empleado mofetil micofenolato (MMF), sirolimus, alemtuzumab, ATG, pentostatina, etc... Algunas estrategias como daclizumab, infliximab u otros anticuerpos monoclonales dirigidos frente a citocinas implicadas en el proceso inflamatorio se proponen como alternativas eficaces de segunda o tercera línea, habiéndose descrito tasas

de respuesta muy elevadas (67-100%) si bien la supervivencia a medio plazo de estos pacientes se ve seriamente afectada por el elevado riesgo de infecciones⁴⁵.

2.4.10. Pronóstico

La supervivencia de los enfermos con EICH a 10 años está entre un 4-71%.² La calidad de vida de estos pacientes se ve profundamente mermada, aunque harían falta estudios que estadifiquen correctamente la morbilidad.

2.5. Enfermedad injerto contra huésped ocular

La afectación ocular en la enfermedad injerto contra huésped es de entre 40-60%, aunque pueden aparecer complicaciones oftalmológicas sin llegar a tener criterio de EICH ocular hasta en un 90%³³. Principalmente se altera la superficie ocular mediante la inflamación y la cicatrización de las glándulas lagrimales o los conductos de las glándulas de Meibomio. La mayoría de los síntomas transcurren en el contexto de una EICH crónica y constituyen un marcador de progresión sistémica del EICH, viéndose relacionado los test de confortabilidad oftalmológica (OSDI) con el índice de funcionalidad vital de Karnofsky^{6,46}. El compromiso ocular es por tanto un factor pronóstico de aumento de mortalidad⁴⁷. Sin embargo, que la enfermedad injerto contra huésped sistémica se haya evitado con terapia inmunosupresora no previene de las complicaciones oculares³. Los cambios leves en la superficie ocular no comprometen generalmente la agudeza visual, que de hecho es bastante estable a lo largo de la enfermedad, pero sí influye en la calidad de vida diaria por disminuir la calidad de la visión⁴⁸. Los cambios graves en la superficie ocular pueden llevar incluso a la amaurosis. Se consideran factores de riesgo para desarrollo de EICH ocular la previa afectación cutánea o de la mucosa bucal⁴⁹.

2.5.1. Clínica del EICH ocular

Afectación ocular en EICH agudo

La forma aguda suele cursar con alteración inflamatoria a nivel conjuntival y corneal. En esta fase de la enfermedad, normalmente, los síntomas oftalmológicos tienen correlación sistémica⁵⁰. Los tejidos corneales y conjuntivales son tejidos diana con características similares a los cutáneos.

La queratoconjuntivitis sicca es la complicación más frecuente en la EICH aguda y crónica y la afectación corneal se atribuye a este síndrome de ojo seco³. Se ha determinado una escala para graduar la afectación conjuntival aguda y crónica⁵¹:

Clasificación para la conjuntivitis en la forma aguda

- 0: No hay.
- 1: Hiperemia.
- 2: Hiperemia con secreción serosanguínea.
- 3: Conjuntivitis pseudomembranosa.
- 4: Conjuntivitis pseudomembranosa con cicatrización conjuntival.

Clasificación para la conjuntivitis en la forma crónica

- 0: No hay.
- 1: Hiperemia conjuntival.
- 2: Cambios fibrovasculares en la conjuntiva palpebral con queratinización.
- 3: Cambios fibrovasculares en la conjuntiva palpebral que afectan entre un 25 y un 75 % de la superficie.
- 4: Cambios fibrovasculares en la conjuntiva palpebral que afectan a más del 75 % de la superficie.

La conjuntivitis pseudomembranosa se ha descrito en un 12-17 % de los pacientes con EICH aguda y constituye un marcador de enfermedad sistémica así como indicador de mal pronóstico^{52,53}. Hasta un tercio de pacientes acompañan la conjuntivitis pseudomembranosa de desepitelización corneal⁵³.

Afectación ocular en EICH crónico

Aunque no hay un signo específico de EICH ocular crónica, la queratoconjuntivitis sicca se ha observado en 69-77 % pacientes con EICH sistémica crónica, y aunque la enfermedad general mejore, la mayoría no se recupera de la deficiencia acuosa⁵¹. La etiología primaria de este ojo seco se debe a la fibrosis y destrucción de los conductos de las glándulas lagrimales⁵⁴. Esto se ve acompañado de la elevación de fibroblastos CD4

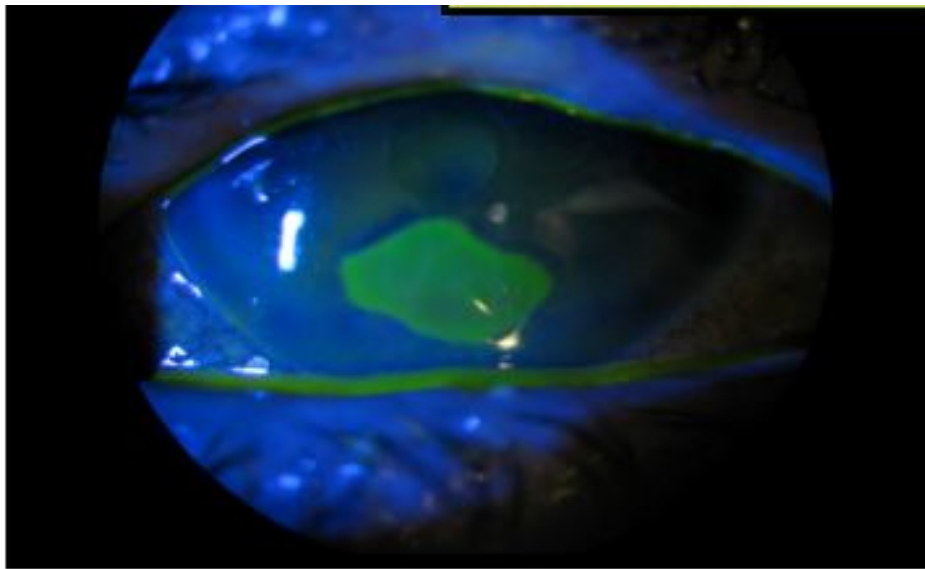


Figura 2.2 Úlcera neurotrófica en paciente con EICH ocular.

además de aumento de linfocitos⁵⁵. La cantidad de fibroblastos está más relacionada con la clínica y es un dato característico ya que no se encuentra en otro tipo de ojo seco como la enfermedad de Sjogren⁵⁴. La etiología secundaria del ojo seco se trata en el ojo seco evaporativo por la disfunción de glándulas de Meibomio con la consecuente disminución del tiempo de ruptura lagrimal⁵⁶. Cuando el ojo seco se hace severo es posible observar cambios corneales como queratitis punctata, úlceras e incluso perforación corneal⁵⁷. Estas úlceras de complicado manejo requieren a veces tratamiento sistémico para su curación⁵⁸ (ver Figura 2.2).

Además de la propia enfermedad, es necesario realizar un buen diagnóstico diferencial, ya que la irradiación total, la quimioterapia, la inmunosupresión y las infecciones pueden alterar el flujo lagrimal y provocar ojo seco^{3,59}. Por tanto, los síntomas más frecuentes están asociados a los cambios en el polo anterior como irritación, picor, sensación de cuerpo extraño, dolor, enrojecimiento y visión borrosa⁶⁰. Los cambios cicatriciales y la queratoconjuntivitis límbica superior son muy comunes y se pueden asociar a simbléfaron, ectropión, entropión, atrofia de las glándulas de Meibomio y estenosis del punto lagrimal (ver Figura 2.3).

Otras manifestaciones clínicas menos frecuentes son las siguientes:

- Cataratas: es una complicación poco frecuente. Hay que hacer el diagnóstico diferencial con el uso de corticoides tópicos y sistémicos. Aunque se ha descrito la aparición de cataratas independientemente a la terapia corticoidea⁵.



Figura 2.3 Simbléfaron cicatricial en paciente con EICH ocular.

- Microangiopatía vascular: con la consecuente formación de exudados algodonosos, hemorragias y exudados lipídicos⁶¹.
- Uveítis: por el ataque directo de los linfocitos del donante hacia los antígenos no compatibles del huésped⁶²].
- Corioretinopatía serosa central: por alteración vascular coroidea que promueve la trasudación.
- Edema del nervio óptico: es una patología poco frecuente y habría que hacer un diagnóstico diferencial con los efectos secundarios por ciclosporina.

La clínica de EICH crónica puede aparecer en ausencia de ningún tipo de enfermedad sistémica, por lo que hay que monitorizar a estos pacientes⁶³.

2.5.2. Diagnóstico

Agudeza visual

Aunque la agudeza visual no suele verse mermada en pacientes con EICH ocular, esta puede verse alterada en diversos momentos por la afectación de la superficie corneal. Suele ser una pérdida de agudeza visual reversible⁶⁴.

Biomicroscopía y funduscopy

Para poder detectar el estado de enfermedad injerto contra huésped ocular debemos reunir una serie de signos y síntomas ya descritos que se apoyen en test diagnósticos cuantitativos como el test de Schirmer. La biomicroscopía y el exámen de fondo de ojo exhaustivo deben ser llevadas a cabo en pacientes con sospecha de EICH.

Test de Schirmer

Es la prueba clásica para el diagnóstico del ojo seco y la que sigue siendo más útil en la actualidad. El test de Schirmer es un método cuantitativo de estimación de la secreción glandular lagrimal. Sus diversas formas, así como las distintas variantes introducidas para la realización de este test, tratan de medir la producción lagrimal tanto basal como refleja. Se afecta sobre todo en casos de ojo seco acuodeficiente. Existen tres modalidades:

- Schirmer tipo I sin anestesia: Mide la secreción basal y refleja. Se considera normal un valor >10 mm de la tira a los 5 minutos.
- Schirmer tipo I con anestesia: La prueba mide la secreción basal incrementada por el reflejo trigeminal naso-lacrimal. Se considera normal un valor >6 mm a los 5 minutos.
- Schirmer tipo II (con estimulación nasal): Mide la secreción basal y refleja máximas. Es de gran utilidad a la hora de distinguir entre pacientes con síndrome de Sjögren de aquéllos sin síndrome de Sjögren. En los pacientes no Sjögren presentan un considerable aumento secretorio lagrimal tras la estimulación nasal, mientras que casi no hay cambios secretorios en los pacientes con síndrome de Sjögren.

El test de Schirmer asociado a un síntoma característico puede considerarse tan válido como una biopsia para el diagnóstico de EICH¹⁸. Así, la nueva aparición de queratoconjuntivitis sicca acompañada de un test de Schirmer entre 6 a 10 mm o síntomas previos acompañados de un test de Schirmer menos de 5 mm asociados a clínica es criterio diagnóstico de EICH ocular.

Anatomía patológica

La biopsia de rutina en los casos agudos no se considera necesaria. Los cambios histológicos son parecidos a los encontrados en piel, sistema gastrointestinal o hígado: disqueratosis con pérdida epitelial, exocitosis linfocítica, y necrosis de células epiteliales⁶⁵. Una técnica a la biopsia de gran fiabilidad y sin necesidad de realizar maniobras

invasivas es la citología de impresión, mediante la cual se pueden alcanzar resultados con técnicas de tinción e inmunohistoquímica. La citología de impresión permite determinar el grado de metaplasia escamosa de la superficie conjuntival. Fue utilizada por primera vez por Egbert⁶⁶, siendo modificada posteriormente por otros autores de acuerdo con sus necesidades. Hay varios criterios de graduación de la metaplasia escamosa basados en parámetros morfológicos omorfométricos⁶⁷.

Graeffes et al.⁶⁸ definieron la necesidad de tomar muestras para citología e inmunohistoquímica, no únicamente de la conjuntiva bulbar sino también de la tarsal. Debido a la dificultad de la técnica y a la poca significación con respecto a los resultados obtenidos, esto no se hace en la actualidad. La citología de impresión conjuntival muestra grandes ventajas:

- Permite evaluar la superficie ocular como tal en un mismo plano, por lo que es posible hacer contajes celulares y hacerse una idea del conjunto, ver qué tipo de células escasea o la dispersión de las mismas. Se obtiene una superficie lo bastante extensa como para obtener células dendríticas y como para minimizar errores en los contajes⁶⁹⁻⁷¹.
- La conservación de las células es muy buena, por lo que se convierte en la técnica de elección para la mayoría de las evaluaciones de la superficie ocular⁷².
- Es un método poco invasivo, no sangrante y no suele molestar. Puede realizarse en niños y en pacientes poco colaboradores⁷³. Resulta segura, barata y simple⁷⁴.
- No genera artefactos para su uso en inmunohistoquímica⁷⁵.
- Es una técnica complementaria a la biopsia aunque no la sustituye, pero preferible para el contaje de células caliciformes que se considera el más importante para evaluar la funcionalidad de la conjuntiva⁷⁶.
- Existe una correlación muy buena entre las muestras obtenidas mediante citología y las obtenidas por biopsia⁷⁷.
- Los cambios conjuntivales se dan previos a los clínicos por lo que la citología es útil para el diagnóstico precoz⁷⁸.

En cuanto a los cambios anatomopatológicos macroscópicos en la córnea se puede observar edema estromal, neovascularización e infiltrados inflamatorios. No se han descrito cambios endoteliales⁷⁹. El futuro del diagnóstico de la enfermedad injerto contra huésped tanto ocular como sistémico será la detección de marcadores específicos como las interleuquinas asociadas.

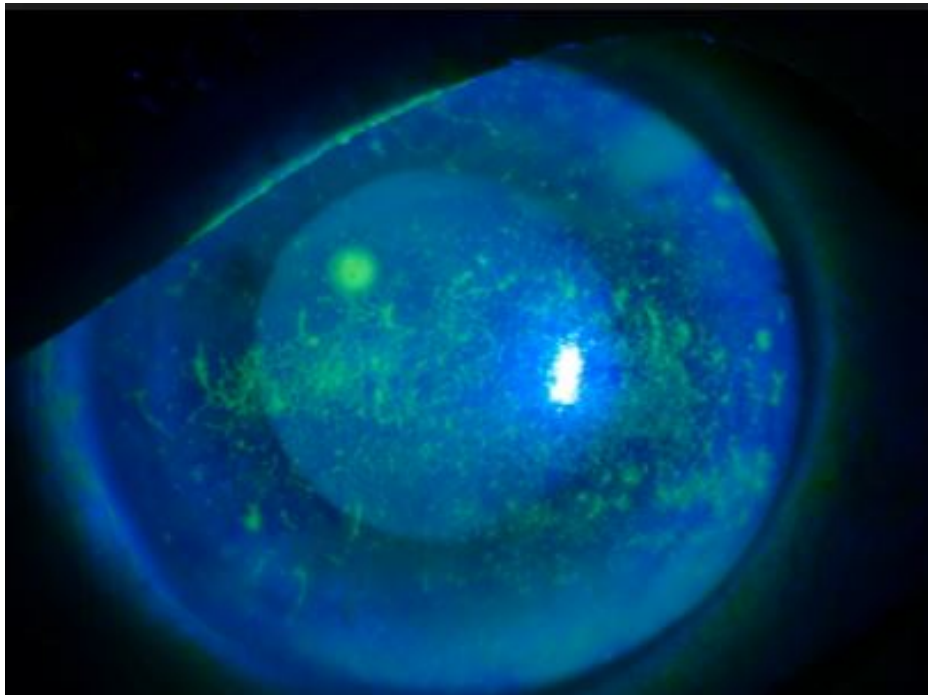


Figura 2.4 Tinción corneal con Fluoresceína, muestra queratitis punteada difusa.

Tinciones

Para valorar las características histopatológicas de la superficie ocular se utilizan diversos colorantes: fluoresceína, rosa de Bengala y verde lisamina. Cada una de estas tinciones presenta apetencias tisulares diferentes.

Las tinciones más usadas son el verde de lisamina y la fluoresceína, que tiñen conjuntiva y córnea respectivamente.

Fluoresceína

Se fija a las membranas basales tiñendo las células epiteliales que presentan membranas celulares dañadas o abrasiones corneales. Por lo tanto sirve para observar defectos epiteliales y áreas en las que las estructuras de unión intercelulares están dañadas⁸⁰ mediante la exploración en lámpara de hendidura bajo filtro cobalto (ver figura 2.4). El grado de severidad de la tinción corneal puede ser evaluado mediante escala de Oxford (será expuesta más tarde) que va desde el 0 al 5 mostrando de menos a más intensidad de la queratitis.

Rosa de Bengala y verde de lisamina

Muestran las zonas donde no existe epitelio corneal o conjuntival o estos estén alterado.



Figura 2.5 Tinción con verde de Lisamina.

El rosa de Bengala, repelido por la mucina de la película lagrimal, tiñe las células degeneradas, al igual que el verde lisamina, y las células viables, no afectadas por esa tinción. Se utilizan para visualizar defectos mucínicos indistintamente ya que ambas presentan el mismo patrón de tinción⁸¹. El verde de lisamina es mejor tolerado, por lo que se emplea más a menudo (ver figura 2.5).

Para poder graduar correctamente la tinción corneal se usa la escala de Oxford (escala Oxford Ocular Surface 2007) o la escala del NEI (National eye institute)⁸².

Test de Ruptura de la lágrima: Break UpTime (BUT)

Se define como el intervalo de tiempo que transcurre entre un parpadeo y la primera aparición de un islote de desecación en la superficie corneal. Es un test cualitativo y sometido a cierta subjetividad, sirve para hacer una aproximación a la calidad de la película lagrimal, sin cuantificarla. Este test se ve alterado en el ojo seco de origen evaporativo, cuya causa principal es la disfunción de glándulas de Meibomio. El BUT normal se considera mayor a 10 segundos, si este intervalo de tiempo es menor a los 10 segundos consideramos que hay una alteración de la estabilidad de la película lagrimal. Recientemente Abelson et al.⁸³ han propuesto reducir el nivel de corte a 5 segundos, aunque actualmente no se disponen de datos que apoyen este cambio de criterio⁸¹.

Cuestionarios

A menudo los síntomas por afectación de la superficie corneal son inespecíficos y la clínica se correlaciona poco con los signos observados por el oftalmólogo. Los cuestionarios de calidad visual nos pueden acercar a un diagnóstico más preciso y conocer el verdadero impacto de la enfermedad en la vida del paciente.

La evaluación del impacto del EICH en la calidad de vida puede ser evaluada mediante diversos cuestionarios. El más utilizado es el test de OSDI (Ocular Surface Index Test). Este test muestra resultados numéricos elevados en pacientes con EICH crónica ocular. El test de OSDI fue primariamente desarrollado para evaluar la progresión en la enfermedad de Sjogren. También se puede utilizar la escala de NIH (National institute of Health)⁸⁴ o el VFQ-25 (Visual Function Questionnaire 25)⁸⁵. Estos cuestionarios revelan la verdadera repercusión del EICH, ya que estos pacientes, aún con agudeza visual conservada, tienen dificultad para el desarrollo de actividades cotidianas como leer, conducir, trabajar con ordenador, etc⁸⁶.

Test de Osmolaridad

La osmolaridad se ve aumentada en el síndrome de ojo seco. Se considera una osmolaridad aumentada si es $>326\text{mOsm/l}$ ⁸¹. La hiperosmolaridad de la lágrima supone un “estrés osmótico” a la superficie ocular que ocasiona inflamación crónica, alteración de las células epiteliales y disminución de células caliciformes, por lo que afecta la calidad de la película lagrimal⁸⁷. La medida de la osmolaridad lagrimal se correlaciona con la sintomatología y gravedad del ojo seco y es una de las herramientas más útiles en diagnóstico, aunque en la práctica clínica no se realiza de forma habitual⁸².

Biomicroscopía confocal

En el estudio confocal de la córnea ha descrito un aumento de la tortuosidad y engrosamiento de los nervios corneales, así como disminución del tamaño celular.

Tomografía corneal

El impacto de las alteraciones morfológicas corneales en paciente con síndrome de ojo seco debido a EICH no ha sido suficientemente estudiado a día de hoy. Sin embargo, numerosos estudios en pacientes con sequedad debido a artritis reumatoide o síndrome de Sjogren, sí muestran una alteración paquimétrica con disminución del grosor medio, el groso del ápex y el punto más fino detectados mediante cámaras de Scheimpflug^{88,89}. Los valores paquimétricos del epitelio, la membrana de Bowman y la membrana de Descemet

se han visto alterados de forma significativa en pacientes con queratoconjuntivitis sicca de diferentes etiologías⁹⁰. El advenimiento del uso de módulos de superficie anterior mediante tomografía de coherencia óptica podría suponer un avance en la caracterización de estos pacientes.

Yoko Ogawa et al.⁹¹ definieron el diagnóstico de enfermedad injerto contra huésped oftalmológica basándose en cuatro pilares:

- Test de Schirmer
- Grado de Inyección conjuntival
- Tinción corneal
- Test de OSDI

2.5.3. Tratamiento

Además del tratamiento para erradicar la enfermedad injerto contra huésped de base, es necesario actuar a nivel local para combatir los efectos órgano-específicos. No ha sido demostrado que el hecho de aumentar el régimen inmunosupresor reduzca la enfermedad ocular una vez que ésta ya ha aparecido, y además sólo serviría para reducir la posibilidad de curación de la enfermedad hematológica en cuestión. Además, como hemos comentado anteriormente, los síntomas oculares no tienen por qué estar siempre relacionados con la afectación sistémica. Sin embargo, el tratamiento específico ocular no debe ser demorado en cuanto tenemos la sospecha de EICH. Estudios retrospectivos del instituto ocular de Massachusetts alegan que la causa del fracaso en el EICH ocular es casi siempre el retraso en el inicio del tratamiento⁹². Las opciones de tratamiento se basan en cuatro principios básicos: Lubricación, prevención de la evaporación lagrimal, reducir la inflamación y regenerar el epitelio.

Lubricación y preservación de la lágrima

Tanto en la enfermedad injerto contra huésped aguda como crónica, lo más efectivo es el uso de lubricantes artificiales sin fosfato para compensar el déficit lagrimal. Hay diferentes tipos de lubricantes, algunos de composición acuosa y otros de composición oleosa. No se ha visto una clara diferencia entre los diferentes tipos de lubricantes que existen en el mercado⁹³. Lo que sí ha supuesto una diferencia relevante es el uso de lubricantes sin conservantes⁹⁴, así como el empleo de agentes hipoosmolares⁹⁵. Además,

el uso de lágrimas artificiales promueve el aclarado de los mediadores inflamatorios de la superficie ocular¹¹.

La *acetilcisteína* al 5-10 % también puede ser útil para la queratitis filamentosa asociada al ojo seco, actúa rompiendo las uniones disulfúricas, disolviendo el moco⁹⁴.

Los *secretagogos* orales, como la pilocarpina, pueden promover el aumento lagrimal pero la evidencia clínica de mejoría de los síntomas no ha sido demostrada, además suponen un aumento de efectos secundarios en pacientes ya de por sí muy sintomáticos sitmáticamente.

La *oclusión del punto lagrimal* también ha resultado satisfactoria, se puede ocluir el punto lagrimal de forma reversible con tapones de silicona o de forma definitiva con cauterización térmica. La decisión de colocar o no tapones lagrimales se hace siempre en función del test de Schirmer, ya que son recomendados en el ojo seco acuodeficiente y no en el ojo seco evaporativo. Además si se implantan en pacientes con disfunción de las glándulas de meibomio, deben extremarse las medidas de higiene palpebral. El uso de tapones lagrimales disminuye la necesidad de lubricantes⁹⁶. La caída espontánea de los tapones lagrimales es una complicación poco frecuente en pacientes con EICH ocular, ya que éstos normalmente presentan un elevado grado de fibrosis conjuntival. En caso de caída repetida de tapón lagrimal se puede optar por la cauterización termal del punto lagrimal⁹⁷.

El *suero autólogo* se usa desde la década de los 80 para el tratamiento del ojo seco. El mecanismo de acción no es totalmente conocido, pero se sabe que sus componentes están implicados en la proliferación, la migración y la diferenciación de las células epiteliales de la superficie ocular. Tiene alta concentración de factores de crecimiento epitelial, fibronectina, vitamina A, factor trasformador de crecimiento de fibroblastos, antiproteasas, anticlagenos y factores neuronales como la sustancia P⁹⁸. También contiene inmunoglobulinas como la IgG, lisozima y otros factores que promueven su efecto bactericida y bacteriostático⁹⁹.

Disminución de la inflamación.

La *ciclosporina A* tópica se ha utilizado para la enfermedad injerto contra huésped ocular refractaria a tratamiento lubricante [Kiang 1998]. La ciclosporina actúa inhibiendo la proliferación de células T y la producción y liberación de linfocinas por parte de las células T conjuntivales. También está implicada en la reparación de las células epiteliales y el incremento en la densidad de células caliciformes¹⁰⁰. Es por tanto utilizada en el tratamiento de úlceras corneales estériles y de casusa autoinmune sin que su uso promueva la aparición de infecciones¹⁰¹. La posología habitual es de dos veces al día, sin

embargo, se ha visto que el incremento de más de dos veces al día puede mejorar los síntomas, el grado de tinción y la secreción basal¹⁰². El uso profiláctico de ciclosporina antes del trasplante también disminuye la inflamación de la glándula lagrimal y favorece la secreción basal¹⁰³. Kim et al.¹⁰⁴ demostraron la eficacia del implante epiescleral de ciclosporina A en conejos y observaron que podría tener consecuencias beneficiosas en el futuro aplicadas al humano. La ciclosporina sistémica también puede usarse en caso de gran afectación.

Murphy et al proponen el uso de *ácido retinoico* en pacientes con EICH ocular¹⁰⁵.

Las propiedades antiinflamatorias de los *corticoesteroides tópicos* también están más que aprobadas en la enfermedad injerto contra huésped aguda. Kim et al.¹⁰⁶ son grandes defensores del uso de corticoides tópicos asumiendo el mayor beneficio que riesgo de los mismos. El uso de corticoides en la enfermedad crónica está justificado en caso de cambios cicatriciales¹⁰⁷. Los efectos secundarios son el aumento de presión intraocular y la formación de opacidad cristalina posterior, pero esto únicamente se observan cuando la terapia es de larga evolución. Los corticoides están contraindicados en caso de defectos epiteliales, adelgazamiento estromal o infiltrados. La recomendación actual se basa en pautas cortas de corticoides y pautas prolongadas de ciclosporina A.

El uso de *inhibidores de la Interleuquina 1* (IL-1Ra) ha resultado beneficioso en los estudios realizados con ratones¹⁰⁸. La interleuquina 1 favorece la expresión de citoquinas y la síntesis de metaloproteasas por parte de los queratocitos. Los niveles de interleuquina 1 están directamente relacionados con el grado de tinción corneal¹⁰⁹. El uso off label de IL-1Ra en pacientes con EICH crónica ocular está demostrando resultados prometedores en la calidad visual del paciente, lo cual se ve reflejado en el test de OSDI.

El *Tacrolimus* tiene un mecanismo de acción parecido a la ciclosporina A¹¹⁰ y una mayor potencia inmunosupresora. El Tacrolimus sistémico tiene beneficios en caso de enfermedad injerto contra huésped ocular avanzada, sobre todo para incrementar la producción lagrimal¹¹¹, sin embargo, no hay muchos estudios que justifiquen su uso tópico. Está indicado el Tacrolimus en pacientes en los que otros inmunomoduladores estén contraindicados o la enfermedad haya resultado refractaria a los mismos¹¹².

Regeneración epitelial

El *suero autólogo* ha sido utilizado, además de como lubricante, para promover la regeneración epitelial. Sus beneficios han sido demostrados en multitud de ensayos clínicos¹¹³. Sus múltiples componentes sirven como suplemento para lubricación y mejoran la sensibilidad corneal. Yoon et al.¹¹⁴ estudiaron 12 pacientes con EICH ocular con ojo seco severo y demostraron la gran utilidad del suero autólogo con una mejora de signos

y síntomas. La producción de suero autólogo debe hacerse en centros especializados y de acuerdo a los posibles cambios sanguíneos del paciente en cada momento, y siempre evitando las infecciones.

Las *lentes de contacto* también constituyen una herramienta terapéutica en el ojo seco moderado-severo. Las lentes blandas estabilizan la película lagrimal y restauran la regeneración normal de células epiteliales¹¹⁵. Las lentes esclerales¹¹⁶ y el PROSE (prosthetic replacement of ocular surface ecosystem) pueden mejorar los síntomas y la visión en pacientes con EICH ocular¹¹⁷. Las lentes permeables al gas esclerales mantienen una capa fluida en contacto con la córnea, lo que facilita la regeneración celular. Se usan en pacientes refractarios al tratamiento y se observa una gran mejoría visual con el test de OSDI¹¹⁸.

El uso de *membrana amniótica* en pacientes con alteración de la superficie corneal también puede ser útil para el manejo de la queratoconjuntivitis límbica superior y los defectos epiteliales corneales en pacientes con EICH ocular¹¹⁹. La membrana amniótica favorece la migración de células epiteliales, promueve la diferenciación, refuerza la adhesión y previene la apoptosis celular. Además contiene factores de crecimiento y antifibroblásticos¹²⁰.

Los casos severos de pérdida e sustancia en la superficie ocular requieren cirugía. El *trasplante de células limbares*¹¹⁹ y la *queratoplastia penetrante* o la *DALK* (Deep Anterior Lamellar Keratoplasty)¹²¹ son los procedimientos más utilizados, aunque la queratoplastia tiene una menor tasa de éxito, ya que la misma sequedad ocular va a condicionar la mala evaluación postoperatoria.

El *trasplante multicapas de membrana amniótica* supone también una alternativa para la perforación corneal¹²².

Prevención de la evaporación lagrimal

La inestabilidad de la película lagrimal con evaporación de la misma en un tiempo menor a 10 segundos es típica de la disfunción de glándulas de Meibomio. El uso de compresas calientes, lubricantes y antibióticos como la Eritromicina constituyen el manejo esencial del cuadro. En casos severos se pueden pautar Tetraciclinas orales que, además de por sus propiedades antibióticas, también tienen propiedades antiinflamatorias bloqueando la actividad de la interleuquina 1¹²³.

La inmunosupresión sistémica en pacientes que tienen un EICH exclusivamente ocular no está recomendada, ya que aumenta los efectos secundarios sin reportar gran beneficio. Sin embargo, cuando disminuimos la dosis de inmunosupresores podemos observar una recaída o empeoramiento del estado ocular. Solo en el caso en el que los

síntomas y signos oftalmológicos no puedan ser controlados con fármacos tópicos, se recurrirá al empleo de terapia sistémica.

MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Sujetos

3.1.1. Ámbito de estudio

Pacientes con enfermedad hematológica conocida tratados mediante trasplante de precursores hematopoiéticos en el hospital regional de Málaga, provenientes de la provincia de Málaga y Almería, y las ciudades autónomas de Ceuta y Melilla.

3.1.2. Sujetos de estudio

En esta tesis se incluyen varios grupos de pacientes, con diferentes características, que se han dividido del siguiente modo:

Grupo 1

27 sujetos, 54 ojos

Pacientes procedentes de la provincia de Málaga, Almería y las ciudades autónomas de Ceuta y Melilla con enfermedad hematológica conocida que fueron tratados mediante TPH en el hospital regional de Málaga entre marzo de 2015 y diciembre de 2016. Los pacientes fueron visitados antes del TPH y 100 días después del mismo.

Grupo 2

14 sujetos, 28 ojos

Pacientes procedentes de la provincia de Málaga, Almería y de las ciudades autónomas de Ceuta y Melilla con enfermedad hematológica conocida que fueron tratados mediante

TPH en el Hospital Regional y que desarrollaron enfermedad injerto contra huésped crónica.

Grupo 3

20 sujetos, 40 ojos

Personas libres de enfermedad procedentes de la provincia de Málaga sin enfermedad hematológica ni oftalmológica conocida y de características demográficas similares a los pacientes del grupo 2.

3.1.3. Selección de pacientes

Criterios de inclusión

Grupos 1 y 2

- Enfermedad hematológica conocida
- Ausencia de tratamiento quimioterápico o radioterápico en el momento de estudio.
- Realización de trasplante de precursores hematopoiéticos.
- Mayores de edad, con edad comprendida entre 20 y 70 años.
- Ausencia de enfermedad ocular conocida.
- Tratamiento y seguimiento en Hospital Regional de Málaga.

Grupo 3

- Ausencia de enfermedad hematológica.
- Ausencia de enfermedad oftalmológica.
- Mayores de edad entre 18 y 70 años.

Criterios de exclusión

Grupos 1, 2 y 3

- Menores de edad.
- Embarazadas.
- Cualquier otra enfermedad que pudiese alterar la superficie ocular.

3.2. Material**3.2.1. Material inventariable**

- **Agudeza visual:** Optotipo ETDRS CHART 2 (Zeiss Meditec AG, Germany).
- **Exámen biomicroscópico:** Lámpara de hendidura Modelo 319900-9011 (Zeiss Meditec AG, Germany).
- **Tomografía corneal:** Mapas Topométricos Tomógrafo Pentacam Typ 70700 (Oculus, E.E.U.U.).
- **Procesado y análisis de muestras mediante inmunohistoquímica:** Equipo de inmunotinción automatizada Autostainer Plus (Dako, Glostrup, Denmark) y Microscopio BX41TF (Olympus, Tokyo).

3.2.2. Material fungible

- **Recogida de muestras:** Filtro de acetato de celulosa Millipore tipo GVWP, de 0,22 micras de tamaño de poro (Merck, Germany); portaobjetos convencional sin recubrimiento con área esmerilada para identificaciones de 76x26mm; acetona pura de laboratorio; hemostetas convencionales estériles; colirio Oxibuprocaina clorhidrato al 0.4 % (Llorens, España).
- **Procesado para microscopía óptica:** Hematoxilina de Carazzi; ácido periódico de Schiff; agua sulfurosa; agua destilada; agua alcalinizada; xilol puRo; DPX (adhesivo para montaje); etanol absoluto de 90°, 76° y 50°; Reactivo de Schiff; cubreobjetos de vidrio
- **Procesado para inmunohistoquímica:** Anticuerpo CD8 (clona C8/144B de Dako, Glostrup, Denmark)

- **Test de Schirmer:** Tiras estandarizadas de Schirmer de 35 mm (Alcon, 6201 South Freeway, Texas, USA).
- **Tinciones y BUT test:** Colirio Fluoresceína, 1.7 mg de fluoresceína sódica (Alcon Pharma, Friburgo, Alemania)

3.2.3. Material bibliográfico

- Biblioteca y hemeroteca de los hospitales universitarios Virgen de la Victoria de Málaga y Regional de Málaga.
- Biblioteca y hemeroteca de la facultad de Medicina de Málaga.
- Pubmed.
- Análisis estadístico de programación en R, R Core Team (2016).

3.3. Metodología

3.3.1. Diseño experimental

El estudio se divide en tres ramas principales:

Rama 1

Comparación entre Grupo 1 (antes del TPH y Grupo 1 después del TPH) Estudio longitudinal consecutivo de pacientes diagnosticados de enfermedad hematológica que fueron tratados mediante trasplante de precursores hematopoiéticos. Los pacientes fueron tratados en el servicio de Hematología del Hospital regional de Málaga y los pacientes provenían de la provincia de Málaga, Almería, Ceuta y Melilla. Todos los pacientes fueron explorados antes del trasplante y después del trasplante una vez transcurridos 100 días desde el mismo. El total de pacientes incluidos fue de 26 (52 ojos).

Rama 2

Comparación entre sujetos con EICH (Grupo 2) y personas sanas (Grupo 3) Estudio transversal de casos y controles comparativo de pacientes con enfermedad injerto contra huésped ocular activa versus personas sanas de características demográficas similares. El grupo de casos fueron recogidos de pacientes en tratamiento y seguimiento por el servicio de hematología del Hospital regional de Málaga con diagnóstico de EICH activa. El total

VARIABLE	TIPO DE VARIABLE	VALOR
Agudeza visual	Cuantitativa continua	0.05-2 logMaR
Cuestionario OSDI	Cuantitativa continua	0-100
Test Schirmer	Cuantitativa continua	0-35 mm
BUT	Cuantitativa continua	seg
Linfocitos CD8	Categórica dicotómica	Sí/no
Oxford	Cuantitativa ordinal	0-5
Paquimetría	Cuantitativa continua	micras
Queratometría	Cuantitativa continua	dioptrías

Tabla 3.1 Variables analizadas

de casos explorados fue de 14 pacientes (28 ojos) y el total de controles de 20 personas (40 ojos).

Rama 3

Comparación entre sujetos tratados con TPH (Grupo 1) y sujetos con EICH (Grupo 2) Estudio comparativo entre pacientes sometidos a trasplante alogénico de precursores hematopoiéticos que han desarrollado una enfermedad injerto contra huésped ocular (14 pacientes, 28 ojos) con respecto a los sometidos a TPH que no la han desarrollado (26 pacientes, 52 ojos).

Los pacientes fueron seleccionados mediante los criterios de inclusión y exclusión previamente descritos. Todos los pacientes recibieron explicación del estudio realizado y firmaron el consentimiento informado que se anexa, sometiéndose voluntariamente a las pruebas oftalmológicas practicadas. Se les realizó a todos los pacientes una historia clínica general y oftalmológica exhaustiva para analizar las características de la superficie ocular.

3.3.2. Variables analizadas

Las variables analizadas en el estudio se exponen en la tabla 3.1:



Figura 3.1 Optotipo ETDRS

3.3.3. Exploraciones realizadas

Agudeza visual

Se realizó toma de agudeza visual de ambos ojos por separado utilizando el optotipo ETDRS (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study) CHART 2 en condiciones fotópicas a 3.5 m de distancia de ambos ojos por separado. Los resultados se expresaron con los números obtenidos de la fracción resultante, con valores comprendidos entre 0 y 1 (ver figura 3.1).

Calidad visual mediante test estandarizado de OSDI

Se le realizó al paciente las preguntas del test de OSDI estandarizado. El test de OSDI consta de 12 preguntas que analizan la presencia de síntomas y el impacto de la enfermedad en la función visual y en la vida diaria. Estos 12 ítems están graduados en una escala de 0 a 4, correspondiendo 0 a “Nunca” y 4 a “Siempre”. El valor final del OSDI se calcula

¿HA TENIDO DURANTE LA ÚLTIMA SEMANA ALGUNO DE LOS SIGUIENTES?	SIEMPRE	LA MAYOR PARTE DEL TIEMPO	LA MITAD DEL TIEMPO	ALGUNAS VECES	NUNCA
<i>Sensibilidad a la luz</i>	4	3	2	1	0
<i>Sensación de cuerpo extraño</i>	4	3	2	1	0
<i>Dolor</i>	4	3	2	1	0
<i>Visión borrosa</i>	4	3	2	1	0
<i>Menos visión que antes</i>	4	3	2	1	0
<i>Dificultad para leer</i>	4	3	2	1	0
<i>Dificultad para conducir de noche</i>	4	3	2	1	0
<i>Dificultad para trabajar con ordenador</i>	4	3	2	1	0
<i>Dificultad para ver la televisión</i>	4	3	2	1	0
<i>Molestias con el viento</i>	4	3	2	1	0
<i>Molestias en ambiente seco</i>	4	3	2	1	0
<i>Molestias con aire acondicionado</i>	4	3	2	1	0

Figura 3.2 Test de OSDI

aplicando la siguiente ecuación: $OSDI = [(sumatorio\ de\ puntuaciones\ preguntas\ respondidas) \times 100] / [(n^{\circ}\ preguntas\ respondidas) \times 4]$ De esta manera, la puntuación del OSDI se presenta en una escala de 0 a 100, donde valores elevados se correlacionan con una mayor discapacidad (Figura 8). Los resultados del Test de OSDI se clasifican en normales (valores <12), leves (valores entre 12 y 22), moderados (entre 22 y 50) y graves (valores >50) (ver figura 3.2)

Exámen del polo anterior mediante biomicroscopía

Se realizó un exámen exhasutivo del polo anterior mediante biomicroscopía con lámpara de hendidura (Zeiss), analizando características de la córnea, conjuntiva, párpados, cámara anterior, iris y cristalino.

Topografía corneal

Se le realizó a los pacientes una tomografía corneal mediante topógrafo Pentacam Typ 70700 (Oculus) en condiciones escotópicas. El modelo de análisis utilizado es el mapa Topométrico y se tienen en cuenta los valores de curvatura de la cara anterior (K1 y K2), considerando patológicas curvaturas superiores a 48D, y valores de paquimetría central, paquimetría del ápex y paquimetría más fina, considerando patológicos valores menores a 500 micras (ver figura 3.3).

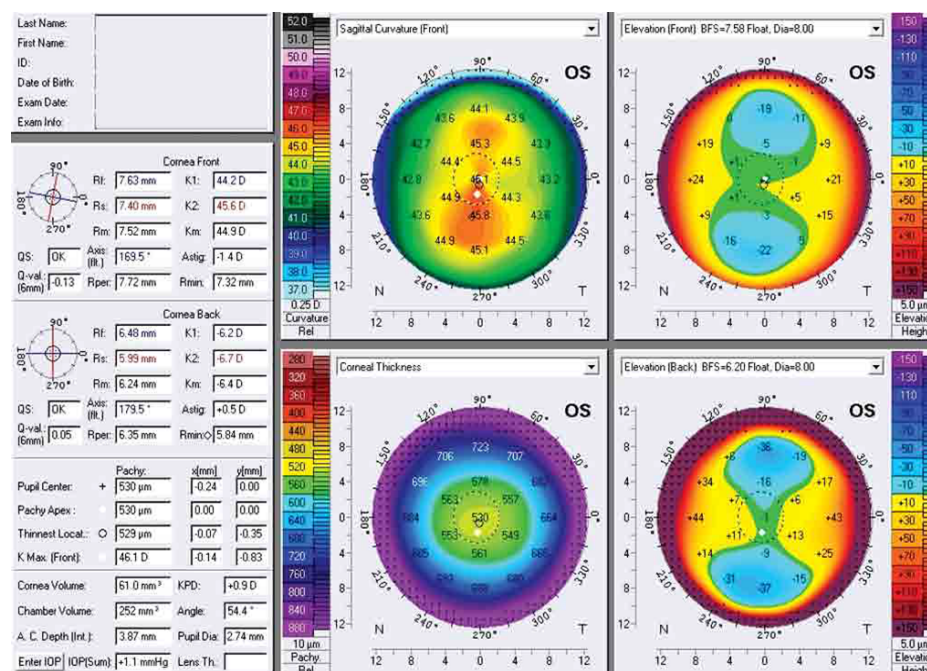


Figura 3.3 Mapa topométrico de Pentacam

Determinación de secreción lagrimal mediante test de Schirmer

Se depositó una tira estandarizada de celulosa (Alcon) de 35 mm sobre la conjuntiva tarsal inferior en el canto externo del ojo. Se solicitó al paciente que cerrara los ojos y se esperaron 5 minutos. Durante la exploración no debe haber luces fuertes ni corrientes de aire.

A los 5 minutos se retiró la tira y se anotó los milímetros lineales humedecidos en la parte no introducida. Los pacientes deben ser explorados siempre en la misma habitación, con luz tenue, una temperatura de unos 25° C y humedad aproximada del 40 %. Se realizó el test de Schirmer sin anestésico, obteniendo por tanto la secreción basal más la secreción refleja (ver figura 3.4). Se consideraron patológicos valores inferiores a 10 mm.

Tinción corneal mediante escala de Oxford

Para la tinción corneal se instiló una gota de fluoresceína sódica al 2 % (Fluoresceína, 1.7 mg de fluoresceína sódica) en el fondo de saco conjuntival inferior. Tras 2 minutos de la instilación se evaluó el grado de tinción de la córnea y de la conjuntiva con luz azul cobalto. El grado de afectación corneal se determina según una escala estandarizada o escala de Oxford.

La escala de Oxford divide la afección gradada de menor a mayor gravedad que va desde el 0 hasta el 5. (ver la figura 3.5).



Figura 3.4 Test de Schirmer

Determinación de tiempo de ruptura de la película lagrimal: BUT test

Se realizó instilado una gota de fluoresceína sódica al 2 % en el fondo de saco conjuntival inferior. Se esperó hasta la eliminación de exceso de colorante y se pidió al paciente que parpadee y que tras ello dejara el ojo abierto. Mediante análisis de la superficie corneal mediante lámpara de hendidura con filtro azul cobalto se contó el tiempo que tardó en aparecer el primer islote de desecación corneal o la primera irregularidad en la lágrima. Este tiempo es el tiempo de ruptura de la película lagrimal o Break Up Time (BUT). Se consideró un BUT patológico cuando el tiempo transcurrido fue menor de 10 segundos.

Citología de impresión conjuntival para procesamiento de muestras mediante inmunohistoquímica

La citología de impresión de la superficie ocular se realizó con anestesia tópica de la córnea y conjuntiva mediante instilación de una gota de colirio anestésico, hidrocloreto de tetracaína y oxibuprocaina (Colircusí Anestésico Doble, Alcon Cusí SA). A continuación, con una pinza se tomó una tira de papel de filtro de acetato de celulosa (Millipore HAWP304) y se depositó sobre la superficie ocular que deseamos estudiar, sobre la que se comprimió suavemente durante unos segundos con la parte plana de la pinza, y se retiró el papel de filtro, que arrastrará pegadas a él una o dos capas superficiales del epitelio conjuntival. Se suelen realizar tomas de varias áreas, la más adecuada es la superficie temporal inferior de la conjuntiva bulbar expuesta (ver figura 3.6).

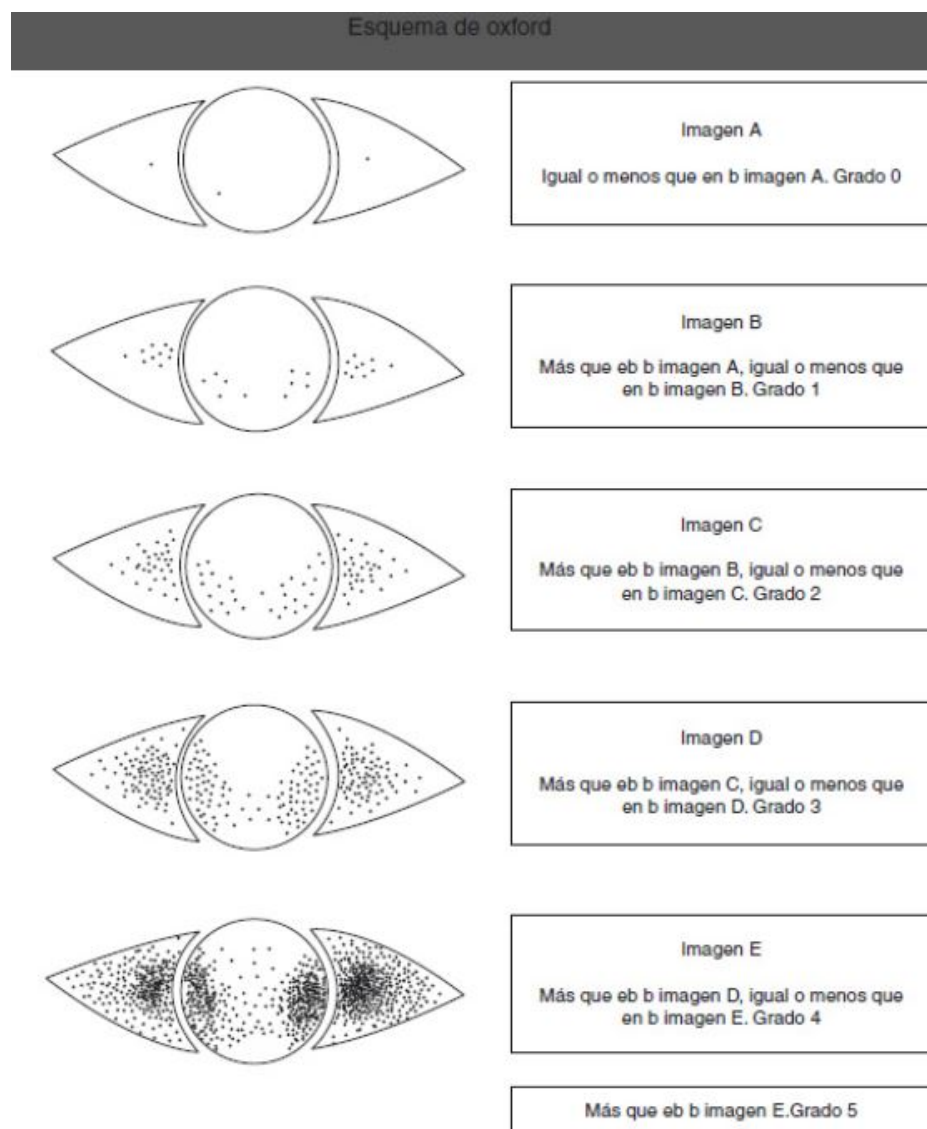


Figura 3.5 Escala de Oxford

3.3.4. Procesado y análisis de las muestras de citología conjuntival para inmunohistoquímica y detección de linfocitos CD8

El estudio inmunohistoquímico se realizó en el Dpto. de Anatomía Patológica de la Facultad de Medicina en la Universidad de Málaga, con la finalidad de identificar presencia de linfocitos CD8, utilizando el protocolo que describimos a continuación. Antes de la inmunotinción, las preparaciones celulares previamente fijadas fueron sometidas a un proceso de desenmascaramiento antigénico en módulo PT-LINK en buffer pH alto. El anticuerpo utilizado ha sido el CD8 (clona C8/144B de Dako, Glostrup, Denmark) prediluido (listo para su uso), una glicoproteína transmembrana de 68 kDa de masa



Figura 3.6 Proceso de toma de muestra mediante citología de impresión

molecular. CD8 se expresa en forma de heterodímero unido por puentes disulfuro. Este anticuerpo constituye una herramienta útil para la identificación de las células T citotóxicas/supresoras y sus homólogas tumorales. La técnica inmunohistoquímica se llevó a cabo en el equipo de inmunotinción automatizada Autostainer Plus (Dako, Glostrup, Denmark). En primer lugar, se realizó bloqueo de la peroxidasa endógena (DAKO Peroxidase Block), incubación con anticuerpo primario, utilizando como método de visualización de la reacción antígeno-anticuerpo el sistema EnVision Flex (Dako, Glostrup, Denmark) con diaminobencidina (DAB) como cromógeno, contratinción con hematoxilina y montaje. Como control de calidad técnica, en cada grupo de preparaciones inmunoteñidas se incluyó una muestra de que expresa el anticuerpo utilizado y un control negativo, donde el anticuerpo primario es sustituido por suero no inmune de la misma especie que el anticuerpo primario.

Las muestras, una vez procesadas, fueron analizadas en el Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Clínico Virgen de la Victoria de Málaga [Microscopio BX41TF (Olympus)].

Se consideraron positivas a linfocitos CD8+ aquellas que contenían células alargadas con núcleo prominente y coloración de la membrana marronácea propia de la inmunotinción específica utilizada (ver las figuras 3.7 y 3.8).

3.3.5. Procesado de datos

Todos los datos fueron recogidos en un ordenador específico del servicio de Oftalmología del Hospital Regional de Málaga: PC Windows 10.

Los textos fueron procesados con el programa Microsoft Word 2007 y los datos archivados en tablas con el programa Microsoft Excel 2005.

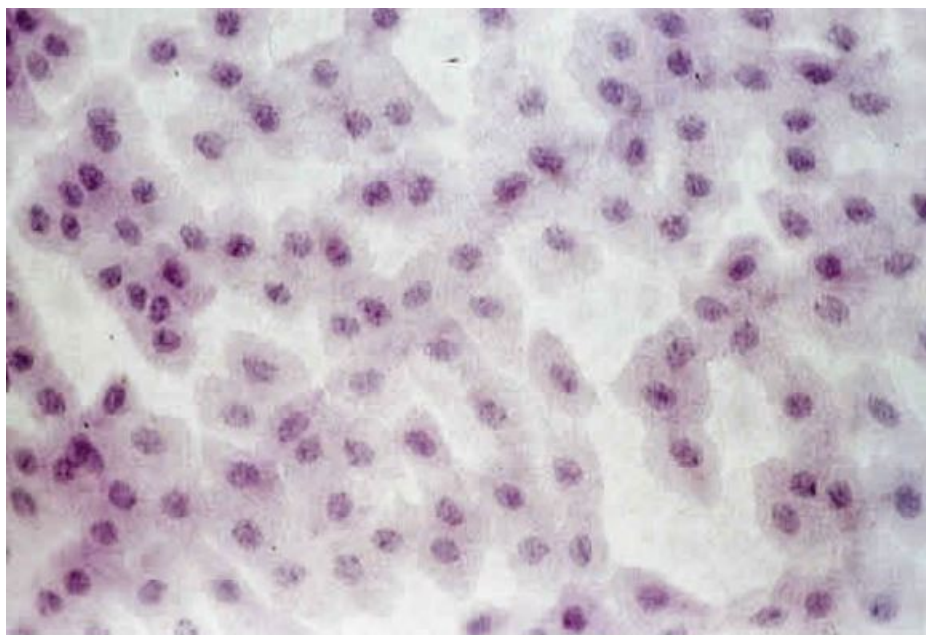


Figura 3.7 Citología conjuntival que muestra células epiteliales sin linfocitos

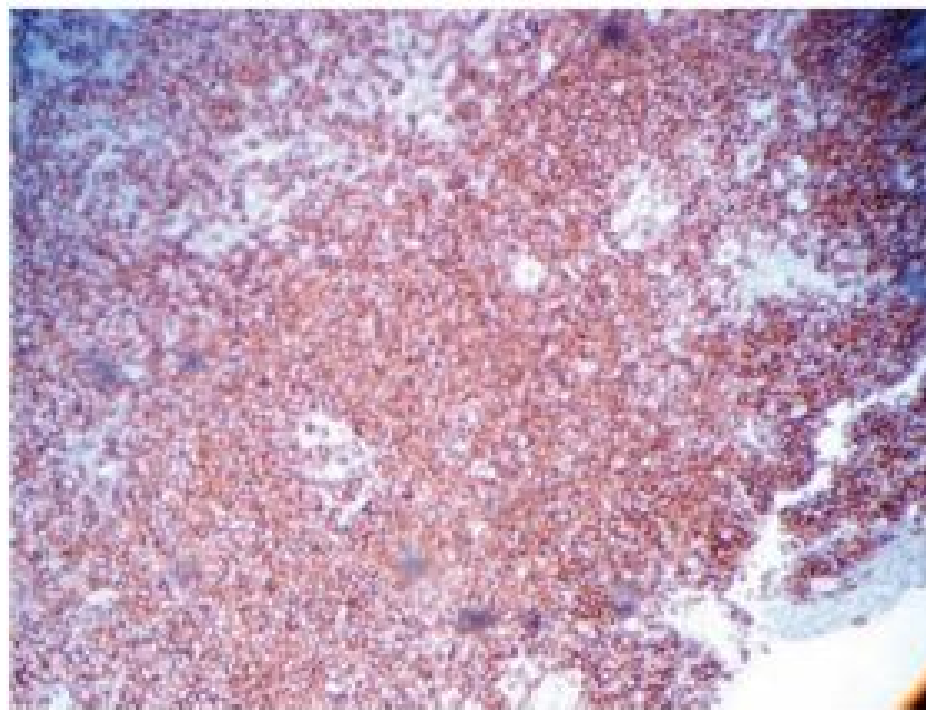


Figura 3.8 Citología conjuntival que muestra células epiteliales con infiltración linfocitaria CD8

El análisis estadístico fue realizado mediante programación en R usando para cada rama de estudio las pruebas estadísticas adecuadas:

Análisis de variables cuantitativas continuas

- **T-test:** Permite analizar si las medias de dos grupos son estadísticamente diferentes. Requiere normalidad en la distribución.
- **Test de Wilcoxon:** Es una prueba no paramétrica para comparar el rango medio de dos muestras relacionadas y determinar si existen diferencias entre ellas. Se usa como alternativa a la prueba t de Student (t-test) cuando no se puede asegurar la normalidad de las muestras.

Análisis de variables cualitativas

- **Chi-cuadrado:** En general, se usa para analizar la asociación entre variables cualitativas. Permite analizar si las medias de dos grupos son estadísticamente diferentes. Requiere normalidad en la distribución.
- **Test de Fisher:** Se usa cuando la muestra a estudiar es demasiado pequeña (alguna celda <5) no se cumplen las condiciones necesarias para la aplicación del test Chi-cuadrado.

3.3.6. Aspectos éticos

- Esta investigación se ha realizado en condiciones de respeto a los derechos fundamentales de la persona y a los postulados éticos que afectan a la investigación biomédica con seres humanos, siguiéndose a estos efectos las recomendaciones internacionales recogidas en la declaración de Helsinki, y sus revisiones posteriores.
- Atendiendo a los criterios de buena práctica clínica, los sujetos fueron debidamente informados de todos aquellos detalles concernientes a su participación en el estudio y darán libremente su consentimiento por escrito.
- La información obtenida en el presente estudio es confidencial. Igualmente, se respetará la confidencialidad de la identidad de los voluntarios cuando los datos obtenidos en este estudio sean publicados.

- El tratamiento de los datos de carácter personal se ha realizado de acuerdo a la normativa vigente el RD 223/2004 de 6 de Febrero y la Ley Orgánica 15/1 999 de 13 de Diciembre sobre protección de datos de carácter personal.

RESULTADOS

4.1. Estadística descriptiva

4.1.1. Hallazgos encontrados en la superficie ocular mediante microscopía óptica

Grupo 1 (Sujetos sometidos a TPH):

20 de los 26 pacientes del Grupo 1 presentaban síntomas de picor y sensación de cuerpo extraño tras el TPH. Los resultados de los signos explorados mediante microscopía óptica tras TPH fueron los siguientes:

- Blefaritis: 7 pacientes.
- Queratitis punctata: 4 pacientes
- Fibrosis del punto lagrimal: 2 pacientes
- Cataratas: 2 pacientes (presentaban catarata antes del TPH y las características de la misma no habían cambiado)

Grupo 2 (Sujetos con EICH ocular):

El 100% de los pacientes presentaban síntomas de alteración de la superficie ocular (molessias, dolor, sensación de cuerpo extraño, visión borrosa, lagrimeo, etc). Los resultados de signos biomicroscópicos de los pacientes con EICH ocular fueron los siguientes:

- Conjuntivitis folicular: 7 pacientes.
- Blefaritis: 6 pacientes.

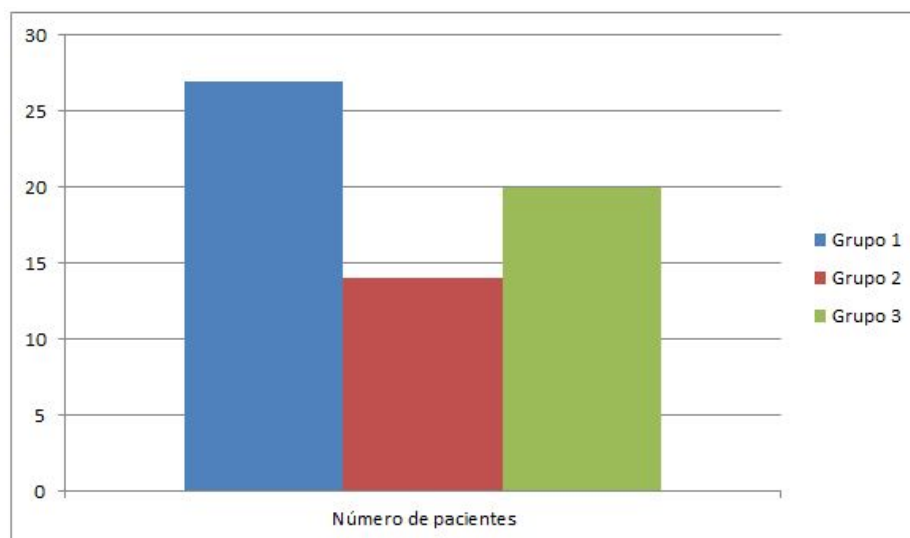


Figura 4.1 Distribución de número de pacientes por grupos

- Queratitis punctata: 5 pacientes.
- Fibrosis del punto lagrimal: 3 pacientes.
- Úlcera corneal neurotrófica: 1 paciente.
- Queratitis filamentosa: 2 pacientes.
- Catarata: 3 pacientes.
- Retinopatía Purtscher-like: 1 paciente

Grupo 3 (Sujetos del Grupo control):

Ningún paciente mostró signos de afectación de la superficie ocular, salvo uno de ellos que presentaba blefaritis leve.

4.1.2. Datos demográficos

Número de pacientes:

El total de ojos estudiados fue de 120 pertenecientes a 60 pacientes: 26 pacientes del grupo 1, 14 pacientes del grupo 2 y 20 pacientes del grupo 3 (ver figura 4.1).

Sexo:

El total de pacientes varones fue de 36 (18 del grupo 1, 8 en el grupo 2 y 10 en el grupo

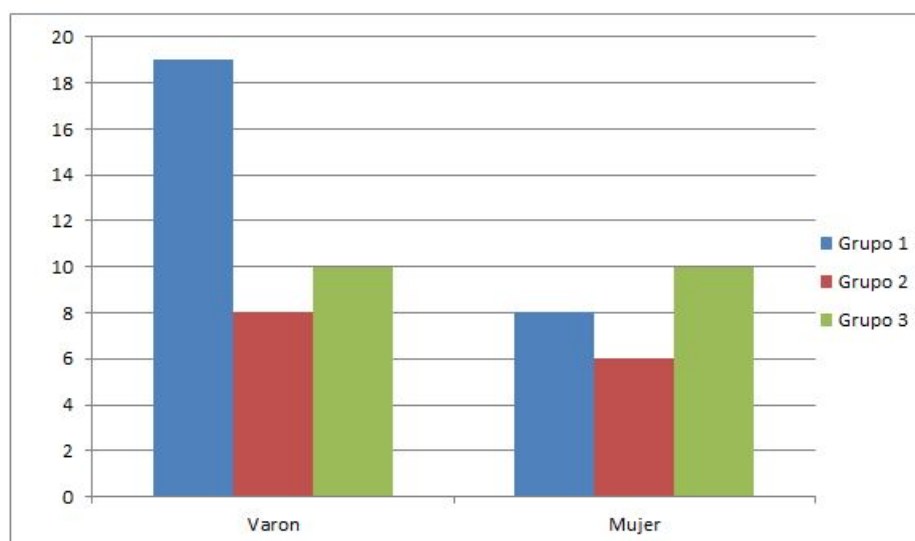


Figura 4.2 Distribución de sexo por grupos

3). El total de pacientes mujeres fue de 24 (8 en el grupo 1, 6 en el grupo 2 y 10 en el grupo 3)(ver figura 4.2).

Edad:

La media de edad de los pacientes estudiado fue de 49.6 (obteniendo una media de edad de 47 en el grupo 1, 51 en el grupo 2 y 49 en el grupo 3) (ver figura 4.3).

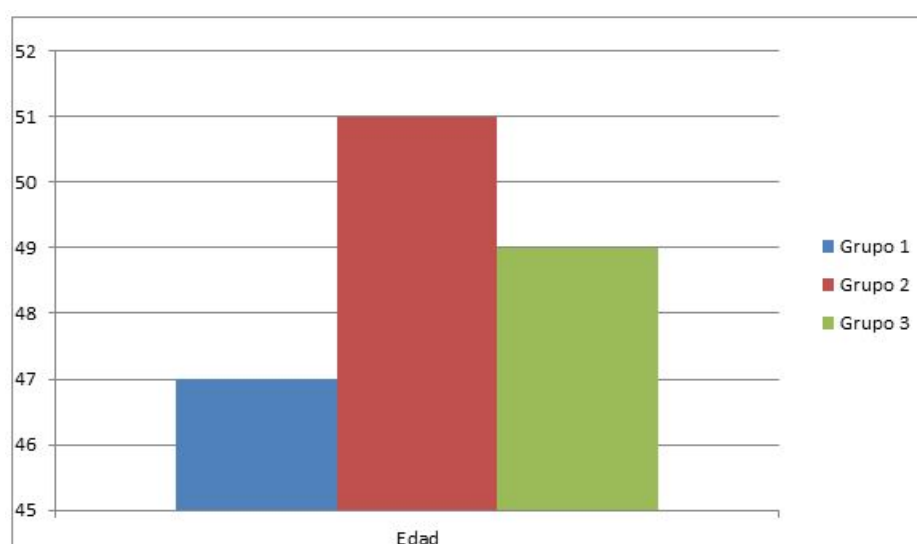


Figura 4.3 Distribución de edad por grupos

Abandonos:

3 pacientes del Grupo 1 abandonaron el estudio antes de que transcurrieran los 100 días tras el TPH por fallecimiento, estos pacientes no han sido computados en nuestro estudio.

4.1.3. Características de las variables en cada subgrupo**Grupo 1: Pacientes Tratados mediante TPH, antes y después del mismo****a) Agudeza visual:**

Los hallazgos en la agudeza visual antes y después del trasplante fueron los siguientes:

Antes del trasplante:

- Media: OD: 0.83 // OI: 0.86 logMar
- Rango: OD: [0-1] // OI: [0.3-1] logMar
- Desviación típica: OD: 0.09 // OI: 0.06 logMar

Después del trasplante:

- Media: OD: 0.8 // OI: 0.81 logMar
- Rango: OD: [0-1] // OI: [0.5-1] logMar
- Desviación típica: OD: 0.08 // OI: 0.1 logMar

b) Test de Schirmer:

Los datos resultantes en el test de Schirmer son los siguientes:

Antes del trasplante:

- Media: OD: 18 // OI: 21.15 mm
- Rango: OD: [5-30] // OI: [5-30] mm
- Desviación típica: OD: 5.61 // OI: 6.75 mm

Después del trasplante:

- Media: OD: 17.46 // OI: 18.57 mm
- Rango: OD: [4-30] // OI: [5-30] mm
- Desviación típica: OD: 5.3 // OI: 0.06 6.78 mm

c) Test de OSDI:

Los datos correspondientes al test de OSDI se muestran a continuación

Antes del trasplante:

- Media: 11.2 puntos
- Rango: [10.4-20.8] puntos
- Desviación típica: 0 puntos

Después del trasplante:

- Media: 16.9 puntos
- Rango: [10.4-52.1] puntos
- Desviación típica: 10.1 puntos

d) Escala de Oxford:

Con respecto a la escala de Oxford encontramos lo siguiente:

Antes del trasplante:

- Media: OD: 0.11 // OI: 0.2 puntos
- Rango: OD: [0-2] // OI: [0-2] puntos
- Desviación típica: OD: 0 // OI: 0 puntos

Después del trasplante:

- Media: OD: 0.46 // OI: 0.54 puntos
- Rango: OD: [0-3] // OI: [0-4] puntos
- Desviación típica: OD: 0.8 // OI: 0.9 puntos

e) BUT test:

En cuanto al BUT test los datos se muestran a continuación:

Antes del trasplante:

- Media: OD: 13.68 // OI: 12.18 seg
- Rango: OD: [8-15] // OI: [9-16] seg
- Desviación típica: OD: 2.24 // OI: 2.10 seg

Después del trasplante:

- Media: OD: 8.26 // OI: 6.3 seg
- Rango: OD: [3-12] // OI: [3-14] seg
- Desviación típica: OD: 2.1 // OI: 1.8 seg

f) Paquimetría corneal central, del ápex y punto más fino :

Los datos de la paquimetría en el punto más fino, en el ápex corneal y en el centro son los siguientes:

Central:

Antes del trasplante:

- Media: OD: 572 // OI: 574 micras
- Rango: OD: [507-630] // OI: [516-635] micras
- Desviación típica: OD: 31.61 // OI: 28.7 micras

Después del trasplante:

- Media: OD: 565 // OI: 571 micras
- Rango: OD: [512-628] // OI: [510-655] micras
- Desviación típica: OD: 30.9 // OI: 29.2 micras

Ápex:***Antes del trasplante:***

- Media: OD: 568 // OI: 561 micras
- Rango: OD: [477-656] // OI: [466-656] micras
- Desviación típica: OD: 32.55 // OI: 27.03 micras

Después del trasplante:

- Media: OD: 570 // OI: 575 micras
- Rango: OD [476-656] // OI: [507-645] micras
- Desviación típica: OD: 31.9 // OI: 28.1 micras

Punto más fino:

Antes del trasplante:

- Media: OD: 566 // OI: 561 micras
- Rango: OD: [470-620] // OI: [473-622] micras
- Desviación típica: OD: 31.6 // OI: 27.5 micras

Después del trasplante:

- Media: OD: 550 // OI: 555 micras
- Rango: OD: [478-615] // OI: [469-639] micras
- Desviación típica: OD: 30.9 // OI: 27.4 micras

g) Queratometría corneal en la cara anterior :

En cuanto a los datos de curvatura corneal encontramos lo siguiente:

K1:

Antes del trasplante:

- Media: OD: 43 // OI: 42.8 D
- Rango: OD: [41.8-46.3] // OI: [39.7-44.5] D
- Desviación típica: OD: 1.9 // OI: 1.7 D

Después del trasplante:

- Media: OD: 42.8 // OI: 42.5D
- Rango: OD: [40.4- 45.8] // OI: [41.5-44.8] D
- Desviación típica: OD: 1.8 // OI: 1.7 D

K2:

Antes del trasplante:

- Media: OD: 43.8 // OI: 44.1 D
- Rango: OD: [39.8-46.9] // OI: [40.6-45.4] D
- Desviación típica: OD: 2.02 // OI: 1.9

Después del trasplante:

- Media: OD: 44 // OI: 43.7 D
- Rango: OD: [40.8-45.8] // OI: [40.6-46.2] D
- Desviación típica: OD: 1.8 // OI: 1.7 D

h) Citología de impresión conjuntival :

De los 10 pacientes del grupo 1 en los que se analizó la presencia de linfocitos CD8+ mediante IMQ, los resultados fueron los siguientes:

Antes del trasplante: 0 muestras positivas para linfocitos CD8+.

Después del trasplante: 13 muestras positivas para linfocitos CD8+, 5 pacientes bilateral y 3 pacientes unilateral.

Los datos del Grupo 1 se representan en la tabla 4.1

Grupo 2: Pacientes con EICH Ocular**a) Agudeza visual:**

Con respecto a los datos de agudeza visual en el Grupo EICH apreciamos:

- Media: OD: 0.77 // OI: 0.77 logMar
- Rango: OD: [0.05-1] // OI: [0.15-1]
- Desviación típica: OD: 0.22 // OI: 0.31 logMar

VARIABLE	MEDIA VISITA 1	RANGO VISITA 1	MEDIA VISITA 2	RANGO VISITA 2
AV OD	0.83	[0-1]	0.8	[0-1]
AV OI	0.86	[0.3-1]	0.81	[0.5-1]
OSDI	11.2	[1.4-20.8]	16.9	[10.4-52.1]
SCHIRMER OD	18	[5-30]	15.45	[4-30]
SCHIRMER OI	18.15	[5-30]	15.57	[5-30]
OXFORD OD	0.11	[0-2]	0.46	[0-3]
OXFORD OI	0.2	[0-2]	0.54	[0-4]
BUT OD	13.68	[8-15]	8.26	[3-12]
BUT OI	12.18	[9-16]	6.3	[3-14]
PAQUIMETRÍA CENTRAL OD	572	[507-630]	565	[512-628]
PAQUIMETRÍA CENTRAL OI	574	[516-635]	571	[510-655]
PAQUIMETRÍA ÁPEX OD	568	[477-656]	570	[476-656]
PAQUIMETRÍA APEX OI	561	[516-635]	575	[507-645]
PAQUIMETRÍA MÁS FINA OD	566	[460-620]	550	[478-615]
PAQUIMETRÍA MÁS FINA OI	561	[473-622]	555	[469-639]
K1 OD	43	[41.8-46.3]	42.8	[40.4-45.8]
K1 OI	42.8	[39.7-44.5]	42.5	[41.5-44.8]
K2 OD	43.8	[39.8-46.9]	44	[40.8-45.8]
K2 OI	44.1	[40.6-45.4]	43.7	[40.6-46.2]
CD8 + OD (valor absoluto)	0		7	
CD8 + OI (valor absoluto)	0		6	

Tabla 4.1 Estadística descriptiva de Grupo 1 antes y 100 días después del TPH

b) Test de Schirmer:

En cuanto al test de Schirmer podemos observar los siguiente:

- Media: OD: 9.4 // OI: 8.64 mm
- Rango: OD: [5-25] // OI: [3-25] mm
- Desviación típica: OD: 5.7 // OI: 6.4 mm

c) Test de OSDI:

Los datos correspondientes al test de OSDI se muestran a continuación

- Media: 47.1 puntos
- Rango: [20.8-62.5]
- Desviación típica: 18.19

d) Escala de Oxford:

Con respecto a la escala de Oxford encontramos lo siguiente:

- Media: OD: 2 // OI: 2.07 puntos
- Rango: OD: [0-4] // OI: [0-4] puntos
- Desviación típica: OD: 1.3 // OI: 1.5 puntos

e) BUT test:

En cuanto al BUT test los datos se muestran a continuación:

- Media: OD: 6 // OI: 5.7 seg
- Rango: OD: [3-8] // OI: [4-8] seg
- Desviación típica: OD: 1.6 // OI: 1.4 seg

f) Paquimetría corneal central, del ápex y punto más fino :

Los datos de la paquimetría en el punto más fino, en el ápex corneal y en el centro son los siguientes:

Central:

- Media: OD: 575 // OI: 591 micras
- Rango: OD: [538-664] // OI: [529-677] micras
- Desviación típica: OD: 36.9 // OI: 45.03 micras

Ápex:

- Media: OD: 591 // OI: 589 micras
- Rango: OD: [539-665] // OI: [537-671] micras
- Desviación típica: OD: 35.7 // OI: 44.5 micras

Punto más fino:

- Media: OD: 575 // OI: 573 micras
- Rango: OD: [534-654] // OI: [516-653] micras
- Desviación típica: OD: 41.6 // OI: 36.7 micras

g) Queratometría corneal en la cara anterior :

En cuanto a los datos de curvatura corneal encontramos lo siguiente:

K1:

- Media: OD: 42.1 // OI: 42.3 D
- Rango: OD: [39.7-45.25] // OI: [39.1-44.6]
- Desviación típica: OD: 1.4 // OI: 2.05 D

K2:

- Media: OD: 44 // OI: 43.9 D
- Rango: OD: [41.8-46.25] // OI: 42.8-45.7] D
- Desviación típica: OD: 1.4 // OI: 2.6 D

h) Citología de impresión conjuntival :

Los resultados de la citología conjuntival se muestran de la siguiente manera: De los 14 pacientes recogidos se obtuvieron 17 muestras positivas para linfocitos CD8. 8 pacientes de forma bilateral y 1 unilateral.

Los datos del Grupo 2 se representan en la tabla 4.2

Grupo 3: Controles Sanos

a) Agudeza visual:

Con respecto a los datos de agudeza visual en el grupo control apreciamos:

- Media: OD: 0.95 // OI: 0.98 logMar

VARIABLE	MEDIA	RANGO
AV OD	0.77	[0.05-1]
AV OI	0.77	[0.15-1]
OSDI	47.1	[20.8-62.5]
SCHIRMER OD	9.4	[5-25]
SCHIRMER OI	8.64	[3-25]
OXFORD OD	2	[0-4]
OXFORD OI	2.07	[0-4]
BUT OD	6	[3-8]
BUT OI	5.7	[4-8]
PAQUIMETRÍA CENTRAL OD	575	[538-664]
PAQUIMETRÍA CENTRAL OI	591	[529-677]
PAQUIMETRÍA ÁPEX OD	591	[539-665]
PAQUIMETRÍA APEX OI	589	[537-671]
PAQUIMETRÍA MÁS FINA OD	575	[534-654]
PAQUIMETRÍA MÁS FINA OI	573	[516-653]
K1 OD	42.1	[39.6-45.25]
K1 OI	42.3	[39.1-44.6]
K2 OD	44	[41.8-46.25]
K2 OI	43.9	[42.8-45.7]
CD8 + OD (valor absoluto)	9	
CD8 + OI (valor absoluto)	8	

Tabla 4.2 Representación de datos descriptivos en Grupo 2

- Rango: OD: [0.7-1] // OI: [0.8-1] log Mar
- Desviación típica: OD: 0.26 // OI: 0.18 logMar

b) Test de Schirmer:

En cuanto al test de Schirmer podemos observar los siguiente:

- Media: OD: 26.4 // OI: 25.8 mm
- Rango: OD: [15-35] // OI: 9-35] mm
- Desviación típica: OD: 8.16 // OI: 7.70 mm

c) Test de OSDI:

Los datos correspondientes al test de OSDI se muestran a continuación

- Media: 10.4 puntos

- Rango: [10.4-10.4] puntos
- Desviación típica: 8.45 puntos

d) Escala de Oxford:

Con respecto a la escala de Oxford encontramos lo siguiente:

- Media: OD: 0 // OI: 0 puntos
- Rango: OD: [0-0] OI // [0-0] puntos
- Desviación típica: OD: 0.65 // OI: 2.7 puntos

e) BUT test:

En cuanto al BUT test los datos se muestran a continuación:

- Media: OD: 12.1 // 12.3 seg
- Rango: OD: [8-16] // OI: [10-17] seg
- Desviación típica: OD: 3.9 // OI: 4.2 seg

f) Paquimetría corneal central, del ápex y punto más fino :

Los datos de la paquimetría en el punto más fino, en el ápex corneal y en el centro son los siguientes:

Central:

- Media: OD: 544.3 // OI: 550 micras
- Rango: OD: [490-590] // OI: [499-588] micras
- Desviación típica: OD: 43 // OI: 42.3 micras

Ápex:

- Media: OD: 544 // OI: 553 micras
- Rango: OD: [487-586] // OI: [497-590] micras

- Desviación típica: OD: 42.2 // OI: 45.3 micras

Punto más fino:

- Media: OD: 538.4 // OI: 545.6 micras
- Rango: OD: [475-482] // OI: [480-481] micras
- Desviación típica: OD: 42.3 // OI: 46.9 micras

g) Queratometría corneal en la cara anterior :

En cuanto a los datos de curvatura corneal encontramos lo siguiente:

K1:

- Media: OD: 43.3 // OI: 43.01 D
- Rango: OD: [39.4-45.8] // OI: [39.4-45.8] D
- Desviación típica: OD: 1.3 // OI: 1.5 D

K2:

- Media: OD: 43.3 // OI: 43.16 D
- Rango: OD: [39.8-46.8] // OI: [40-46] D
- Desviación típica: OD: 1.58 // OI: 1.8

h) Citología de impresión conjuntival :

Todos los sujetos del grupo Control resultaron negativos para linfocitos CD8 en conjuntiva.

Los datos del Grupo 3 se representan en la tabla 4.3

VARIABLE	MEDIA	RANGO
AV OD	0.95	[0.7-1]
AV OI	0.98	[0.8-1]
OSDI	10.4	[10.4-10.4]
SCHIRMER OD	26.4	[15-35]
SCHIRMER OI	25.8	[9-35]
OXFORD OD	0	[0.0]
OXFORD OI	0	[0.0]
BUT OD	12.1	[8-16]
BUT OI	12.3	[10-17]
PAQUIMETRÍA CENTRAL OD	544.3	[490-590]
PAQUIMETRÍA CENTRAL OI	550	[499-588]
PAQUIMETRÍA ÁPEX OD	544	[487-586]
PAQUIMETRÍA APEX OI	553	[497-590]
PAQUIMETRÍA MÁS FINA OD	538.4	[475-482]
PAQUIMETRÍA MÁS FINA OI	545.6	[480-481]
K1 OD	43.3	[39.4-45.5]
K1 OI	43.01	[39.4-45.8]
K2 OD	43.3	[39.8-46.8]
K2 OI	43.16	[40-46]
CD8 + OD (valor absoluto)	0	
CD8 + OI(valor absoluto)	0	

Tabla 4.3 Representación de datos descriptivos del Grupo 3

4.2. Análisis comparativos entre los diversos grupos

A continuación hemos realizado un análisis comparativo entre los diferentes grupos. Los resultados obtenidos fueron representados mediante diagrama de cajas:

- La línea negra central corresponde a la mediana.
- La caja es el rango intercuartílico (Q3-Q1) y corresponde al 50 % de la población.
- Las velas representan el 25 % inferior y el 25 % superior hasta completar el 100 %.
- Si existen outliers se representan como círculos.
- Las medias se representan numéricamente junto a la figura.

4.2.1. Rama 1: Análisis comparativo entre la visita 1 y 2 de pacientes del Grupo 1

El análisis compara la diferencia (media) de los datos recogidos para cada variable entre la visita 1 (antes del trasplante) y la visita 2 (100 días después del trasplante) en los pacientes del Grupo 1.

Los resultados para cada una de las variables analizadas son los siguientes:

a) Agudeza visual :

Al analizar la agudeza visual previa y posterior al trasplante no se observaron cambios estadísticamente significativos entre los dos grupos [OD: $p=0.08$ // OI: $p=0.35$] (ver figuras 4.4, 4.5).

Ojo derecho:

- Media Grupo 1 Visita 2: 0.8
- Media Grupo 1 Visita 1: 0.83

Ojo izquierdo:

- Media Grupo 1 Visita 1: 0.86
- Media Grupo 1 Visita 2: 0.81

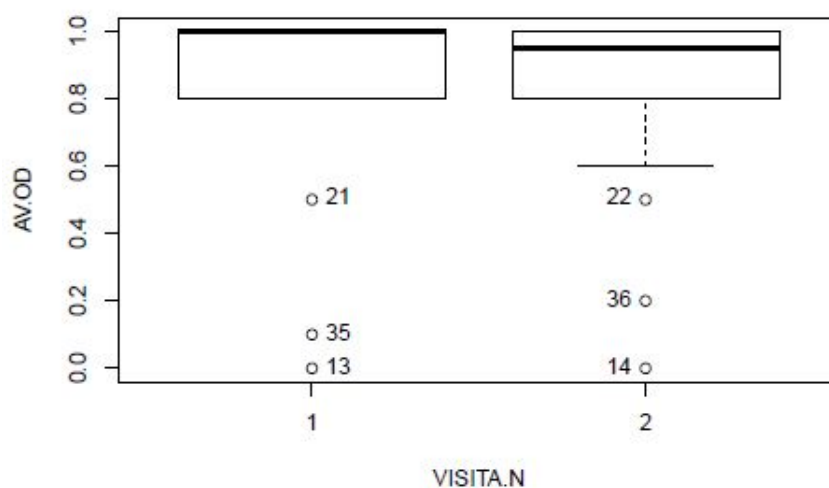


Figura 4.4 Comparación de AV OD mediante Test de Wilcoxon $p=0.08$

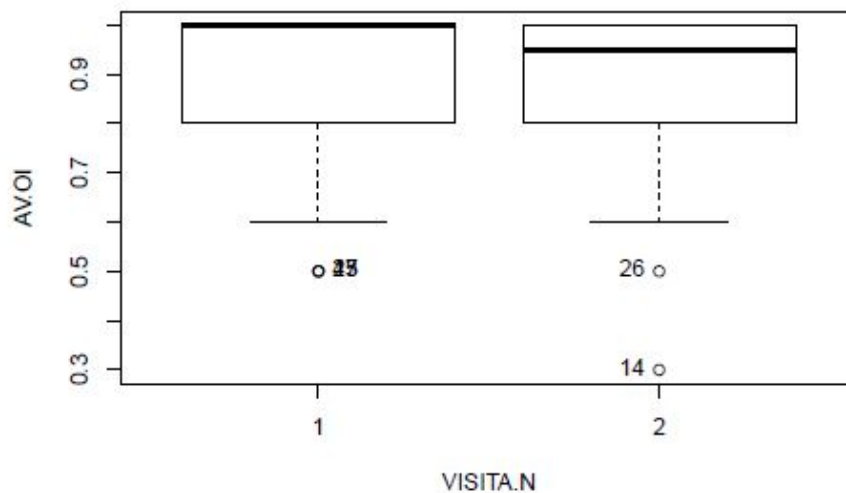


Figura 4.5 Comparación de AV OI mediante Test de Wilcoxon $p=0.35$

b) Test de Schirmer :

Analizando los cambios en secreción basal y refleja lagrimal en los pacientes antes y después del trasplante se comprobó que no existían cambios estadísticamente significativos en las medias entre ambas visitas [OD $p=0.5$ // OI $p=0.8$] (ver figuras 4.6, 4.7).

Ojo derecho:

- Media Grupo 1 Visita 1: 18
- Media Grupo 1 Visita 2: 15.46

Ojo izquierdo:

- Media Grupo 1 Visita 1: 18.15
- Media Grupo 1 Visita 2: 15.57

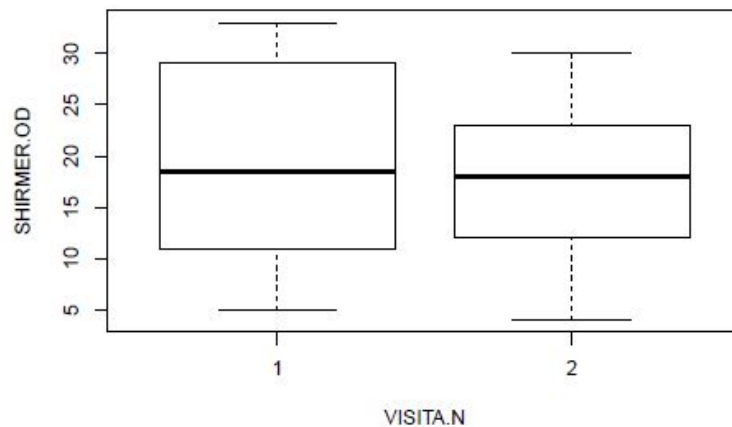


Figura 4.6 Comparación entre test de Schirmer OD mediante Test de Wilcoxon $p=0.5$

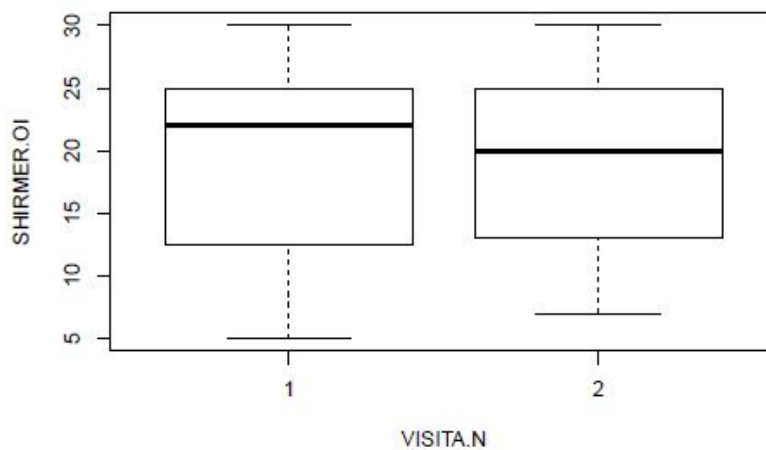


Figura 4.7 Comparación de test de Schirmer OI mediante Test de Wilcoxon $p=0.8$

c) Test de OSDI :

Con respecto a la evaluación del cuestionario de calidad visual en los pacientes antes y después del trasplante vemos que hay un aumento en la media del test de OSDI (peor calidad visual) con significancia estadística ($p=0.003$) mediante test de Wilcoxon (ver figura 4.8).

- Media Grupo 1 Visita 1: 11.2
- Media Grupo 1 Visita 2: 16.9

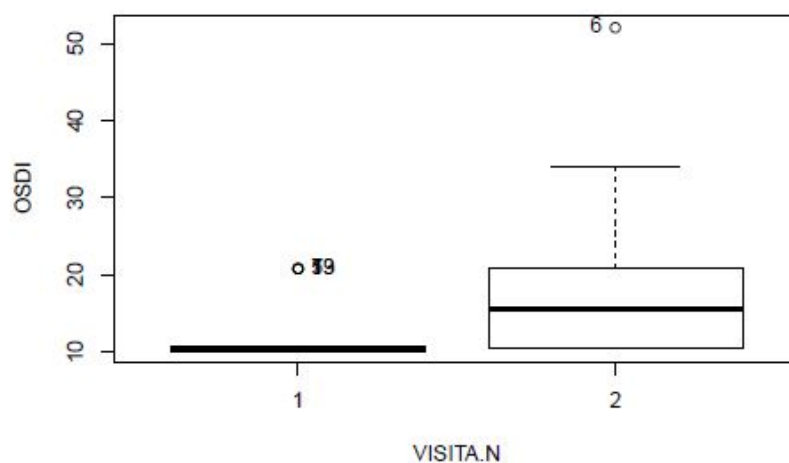


Figura 4.8 Comparación de test de OSDI mediante Test de Wilcoxon $p=0.003$.

d) Paquimetría corneal del centro, ápex y punto más fino mediante topografía:

En cuanto a los grosores corneales; las diferencias entre la visita previa y posterior al trasplante no se demuestran cambios estadísticamente significativos mediante test t de Student en la paquimetría media central [OD $p=0.8$ // OI $p=0.7$], paquimetría del ápex [OD $p=0.8$ // OI $p=0.74$] y paquimetría del punto más fino [OD $p=0.5$ // OI $p=0.8$] (ver figuras 4.9, 4.10, 4.11, 4.12, 4.13, 4.14).

Central:

Ojo derecho:

- Media Grupo 1 Visita 1: 572
- Media Grupo 1 Visita 2: 565

Ojo izquierdo:

- Media Grupo 1 Visita 1: 574
- Media Grupo 1 Visita 2: 571

Ápex:

Ojo derecho:

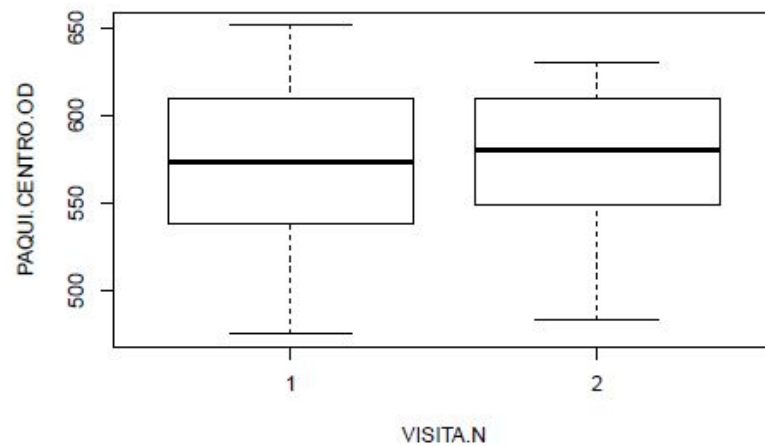


Figura 4.9 Comparación entre paquimetrías centrales de OD mediante test T de Student $p=0.8$

- Media Grupo 1 Visita 1: 568
- Media Grupo 1 Visita 2: 570

Ojo izquierdo:

- Media Grupo 1 Visita 1: 561
- Media Grupo 1 Visita 2: 575

Punto más fino:

Ojo derecho:

- Media Grupo 1 Visita 1: 566
- Media Grupo 1 Visita 2: 550

Ojo izquierdo:

- Media Grupo 1 Visita 1: 567
- Media Grupo 1 Visita 2: 555

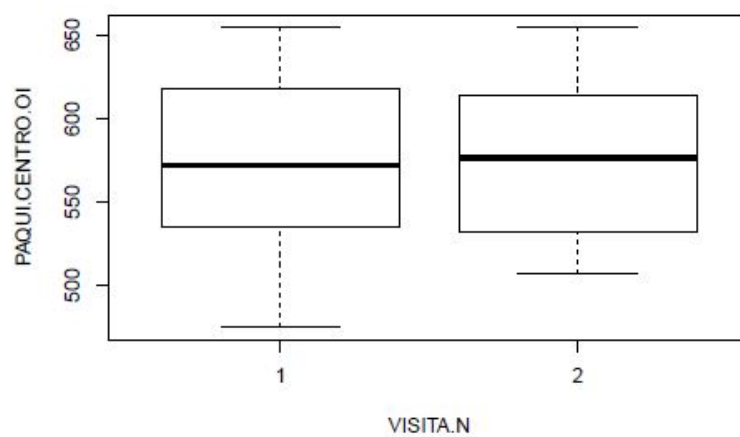


Figura 4.10 Comparación entre paquimetrías centrales de OI mediante test T de Student OI $p=0.7$

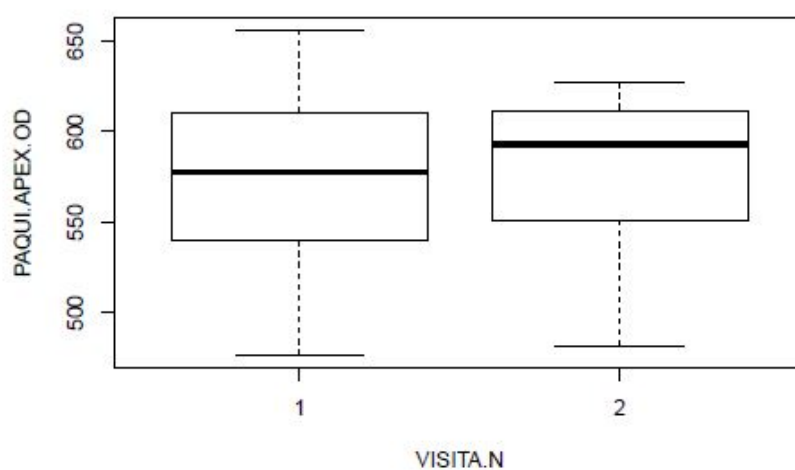


Figura 4.11 Comparación de paquimetrías en el ápex de OD mediante T de Student $p=0.8$

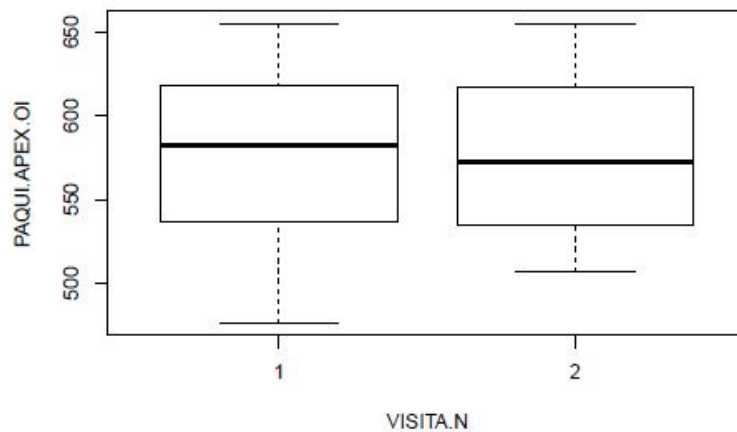


Figura 4.12 Comparación entre paquimetrías del ápex OI mediante test T de Student $p=0.74$

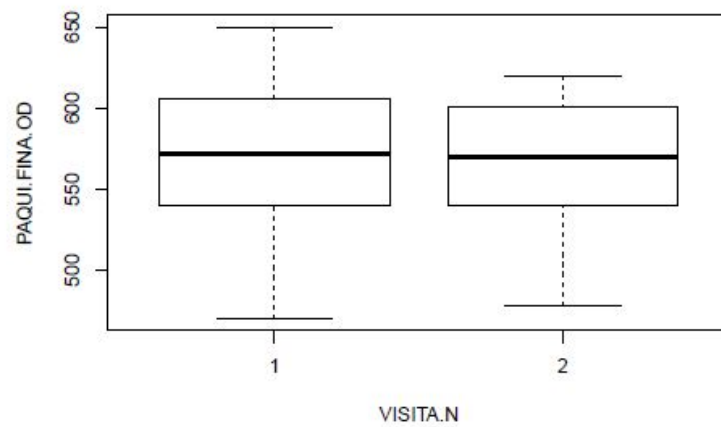


Figura 4.13 Comparación de paquimetrías en punto más fino de OD mediante test T de Student $p=0.5$

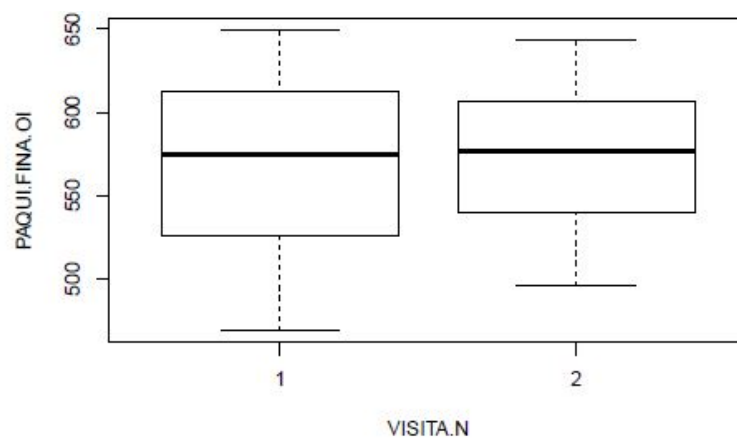


Figura 4.14 Comparación de paquimetrías en punto más fino de OI mediante test T de Student $p=0.8$

e) Queratometrías de la cara anterior corneal mediante Topografía :

K1:

Con respecto al cambio de K1 en pacientes analizados antes y después del trasplante se vio que no hay una diferencia estadísticamente significativa en t de Student . [OD $p=0.44$ // OI $p=0.89$] (ver figuras 4.15,4.16).

Ojo derecho:

- Media Grupo 1 Visita 1:43
- Media Grupo 1 Visita 2: 42.8

Ojo izquierdo:

- Media Grupo 1 Visita 1:42.8
- Media Grupo 1 Visita 2: 42.5

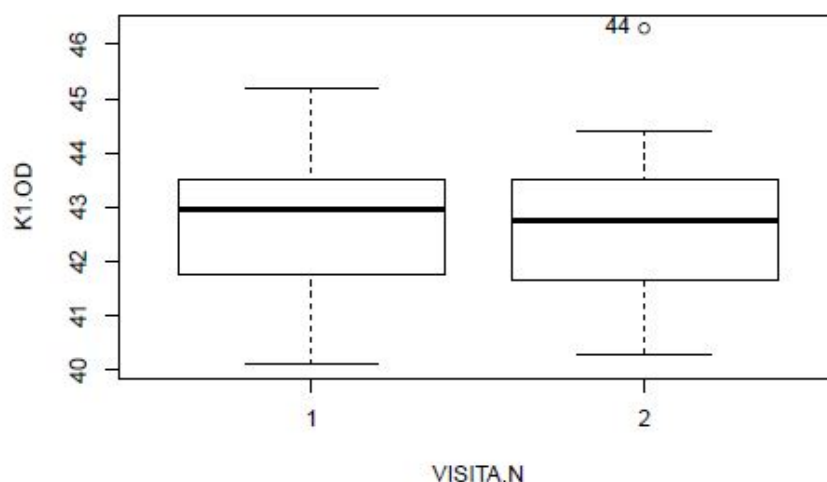


Figura 4.15 Comparación de K1 en OD mediante test T de Student $p=0.44$

K2:

Con respecto al cambio en K2 en pacientes vistos antes y después del trasplante se vio que no hay cambios en la queratometría media estadísticamente significativos K2 [OD $p=0.19$ // OI $p=0.91$] (ver figuras 4.17,4.18).

Ojo derecho:

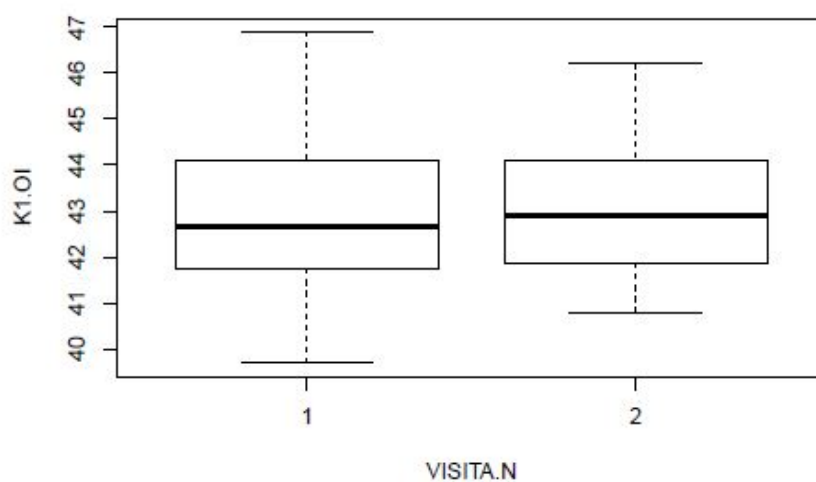


Figura 4.16 Comparación de K1 en OI mediante test T de Student $p=0.89$

- Media Grupo 1 Visita 1: 43.8
- Media Grupo 1 Visita 2: 44

Ojo izquierdo:

- Media Grupo 1 Visita 1: 44.1
- Media Grupo 1 Visita 2: 43.7

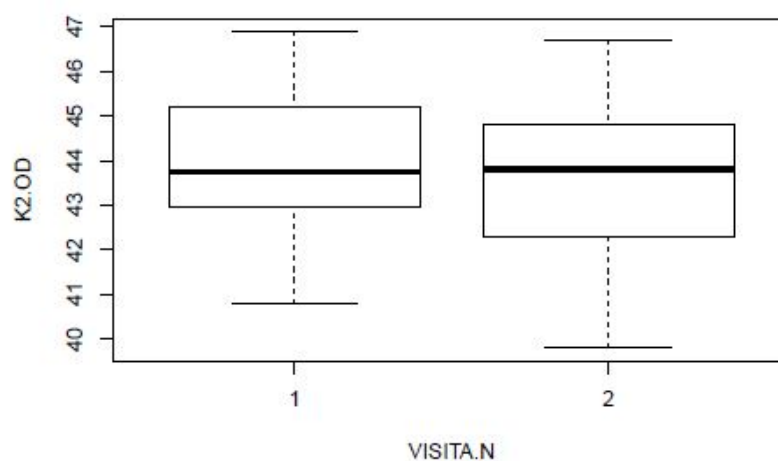


Figura 4.17 Comparación entre K2 de OD mediante test T de Student $p=0.19$

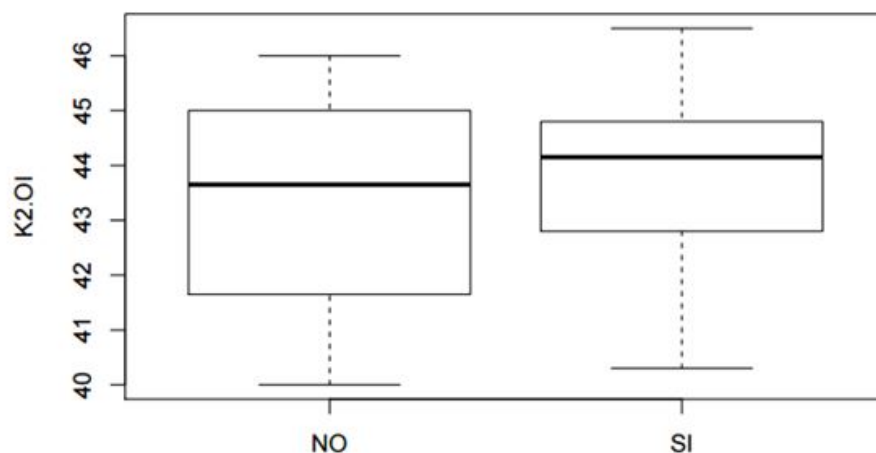


Figura 4.18 Comparación entre K2 OI mediante test T de Student $p=0.91$

f) Escala de Oxford :

En cuanto al grado de tinción corneal diferencial entre los sujetos antes y después del trasplante se vio que existe un incremento en el test de Oxford de los pacientes sometidos a TPH, esta diferencia fue más notable en OD que en OI, siendo ambos estadísticamente significativos en el test de Wilcoxon [OD $p=0.01$ // OI $p=0.05$] (ver figuras 4.19,4.20).

Ojo derecho:

- Media Grupo 1 Visita 1: 0.11
- Media Grupo 1 Visita 2: 0.46

Ojo izquierdo:

- Media Grupo 1 Visita 1: 0.2
- Media Grupo 1 Visita 2: 0.54

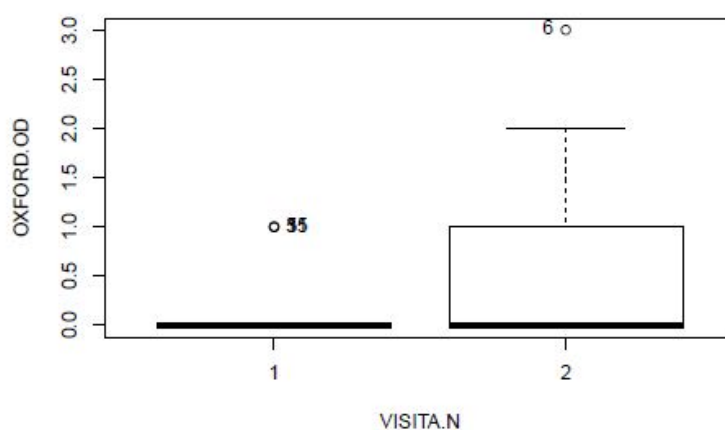


Figura 4.19 Comparación entre escalas de Oxford de OD mediante Test de Wilcoxon $p=0.01$

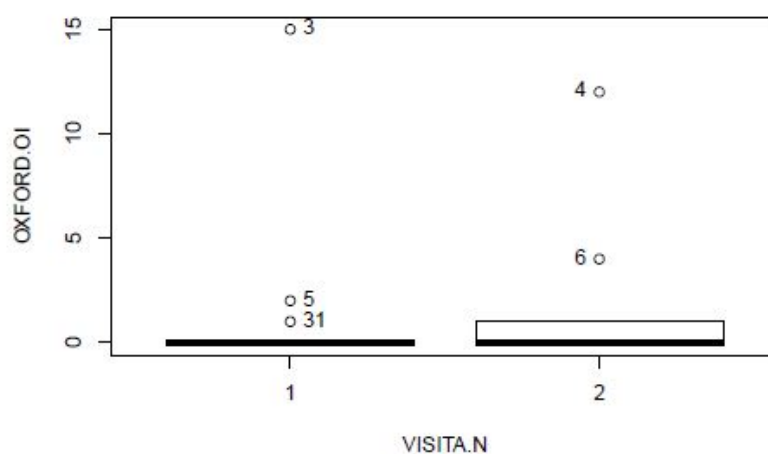


Figura 4.20 Comparación entre escalas de Oxford de OI mediante Test de Wilcoxon $p=0.05$

g) BUT test :

Con el objetivo de analizar los cambios en la evaporación lagrimal de los pacientes antes y después del trasplante se conoció que había una clara diferencia, observándose una disminución en la media de evaporación lagrimal tanto en ojo derecho como en ojo izquierdo y resultando ambas estadísticamente significativas en test de t Student [OD $p=0.0003$ / OI $p=0.0003$] (ver figuras 4.21, 4.22).

Ojo derecho:

- Media Grupo 1 Visita 1: 11.68
- Media Grupo 1 Visita 2: 8.26

Ojo izquierdo:

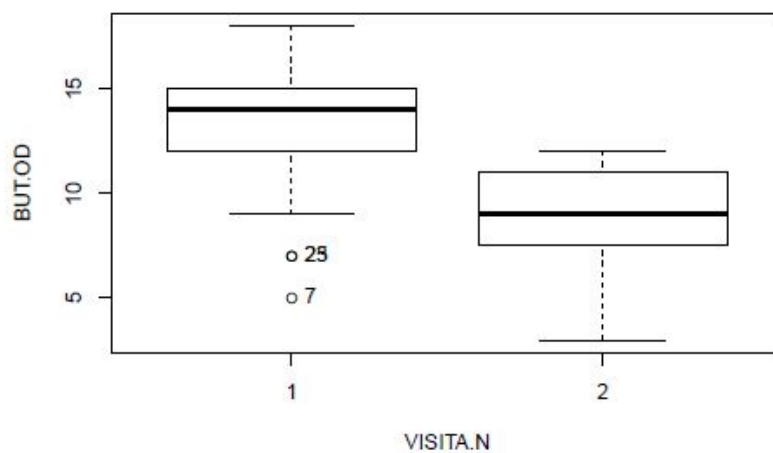


Figura 4.21 Comparación entre BUT test de OD mediante test T de Student $p=0$

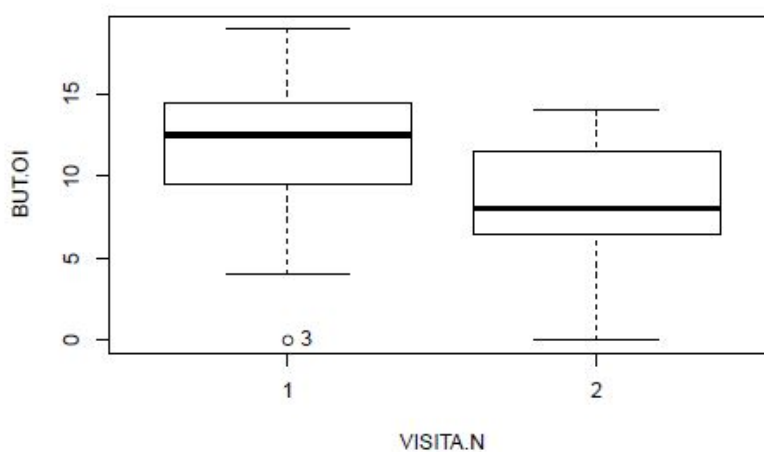


Figura 4.22 Comparación entre BUT test de OI mediante test T de Student $p=0.0003$

- Media Grupo 1 Visita 1: 11.18
- Media Grupo 1 Visita 2: 8.3

h) Cambios Inmunohistoquímicos :

En lo que atañe a la actividad inflamatoria en la superficie ocular, la detección de pacientes con tinción positiva a CD8 en la visita 1 fue 0, mientras que la detección en la visita 2 fueron 13 muestras (5 bilaterales, 2 unilateral en OD y 1 unilateral en OI); mediante el test de Fisher se observa una diferencia estadísticamente significativa entre el

grupo antes y después del trasplante en ambos ojos [OD $p=0.03$ // OI $p=0.01$] (ver figuras 4.23,4.24).

Los datos de ambos ojos se representan en la tabla 4.4

PRESENCIA LINFOCITOS CD8	ANTES TRASPLANTE	DESPUÉS TRASPLANTE
CD8 + OD	0	7
CD8+ OI	0	6

Tabla 4.4 Presencia de Linfocitos CD8+ antes y después del TPH

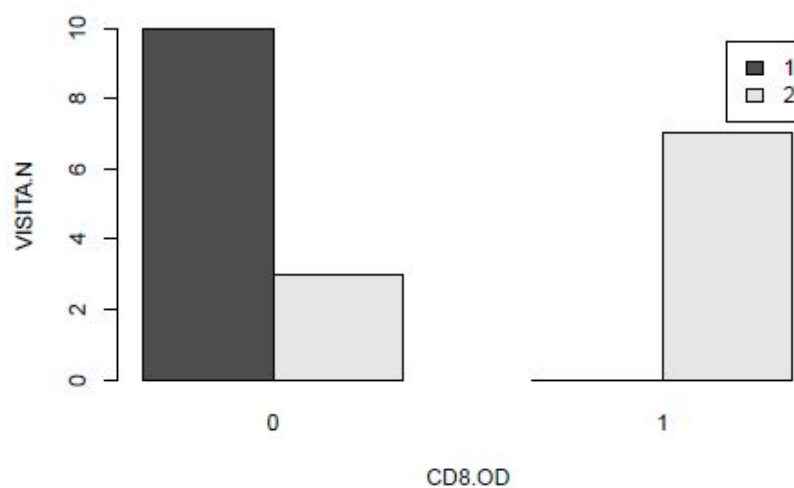


Figura 4.23 Comparación entre muestras conjuntivales de OD según presencia o ausencia de linfocitos mediante Test de Fisher $p=0.03$

Los resultados se muestran representados en la tabla 4.5

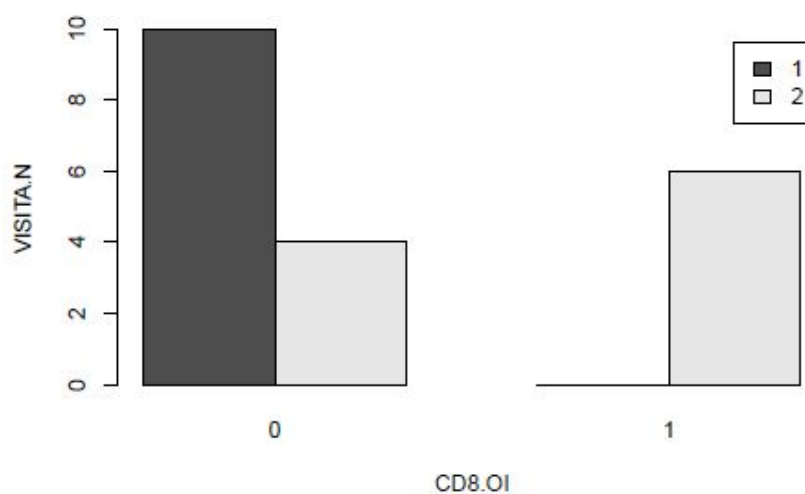


Figura 4.24 Comparación entre muestras conjuntivales de OI según presencia o ausencia de linfocitos mediante test de Fisher $p=0.01$

VARIABLE	MEDIA EN VISITA 1 DE GRUPO 1	MEDIA EN VISITA 2 DE GRUPO 1	SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA
AV OD	1	1	0.08
AV OI	1	1	0.35
SCHIRMER OD	18	20	0.514
SCHIRMER OI	20	20	0.86
OSDI	9	14	0.003
BUT OD	14	7	0
BUT OI	13	7	0.0003
OXFORD OD	0	0	0.01
OXFORD OI	0	1	0.05
PAQUI CENTRAL OD	560	560	0.87
PAQUI CENTRAL OI	560	560	0.70
PAQUI APEX OD	580	570	0.81
PAQUI APEX OI	560	550	0.74
PAQUI FINA OD	560	560	0.56
PAQUI FINA OI	650	560	0.89
K1 OD	42.9	42.5	0.44
K1 OI	42.2	43	0.89
K2 OD	43.4	43.3	0.19
K2 OI	44.1	43.7	0.85
CD8+ OD (valor absoluto)	0	7	0.003
CD8+ OI(valor absoluto)	0	6	0.01

Tabla 4.5 Análisis comparativo Rama 1

4.2.2. Rama2 : Análisis comparativo entre sujetos con EICH ocular (Grupo 2) y sujetos sanos (Grupo 3)

Este análisis compara la diferencia de las medias de los datos recogidos para cada variable entre la grupo 2 (pacientes con EICH ocular) y el grupo 3 (grupo control).

Los resultados para cada una de las variables analizadas son los siguientes:

a) Agudeza visual :

Se han observado cambios estadísticamente significativos entra la AV en pacientes con EICH (Grupo 2) con respecto a la población sana (Grupo 3) para ambos ojos mediante test de Wilcoxon [OD $p=0.0001$ // OI $p=0.0001$] (ver figuras 4.25 y 4.26).

Ojo derecho:

- Media Grupo 2:0.77
- Media Grupo 3: 0.95

Ojo izquierdo:

- Media Grupo 2:0.77
- Media Grupo 3:0.98

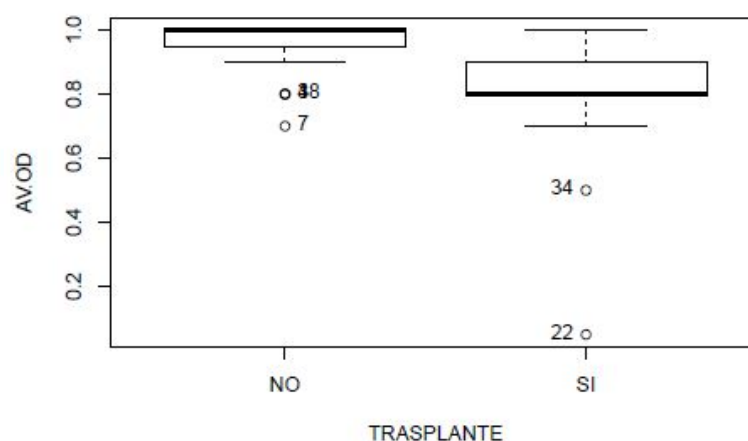


Figura 4.25 Comparación entre AV de OD mediante Test de Wilcoxon OD $p=0.0001$

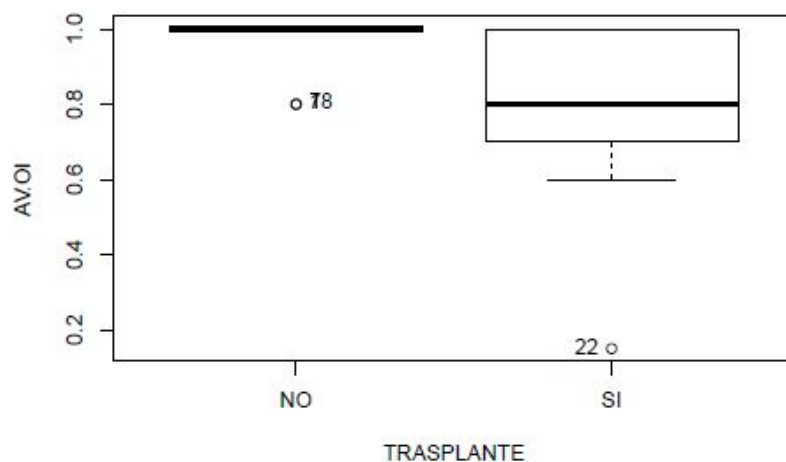


Figura 4.26 Comparación entre AV OI mediante Test de Wilcoxon OD $p=0.0001$

b) Test de Schirmer :

Con respecto al test de Schirmer el valor medio en el grupo EICH fue considerablemente menor que el grupo de personas sanas de forma estadísticamente significativa para ambos ojos [OD $p=0$ // OI $p=0.0005$] (ver figuras 4.27, 4.28).

Ojo derecho:

- Media Grupo 2: 9.4
- Media Grupo 3: 26.4

Ojo izquierdo:

- Media Grupo 2: 8.64
- Media Grupo 3: 25.8

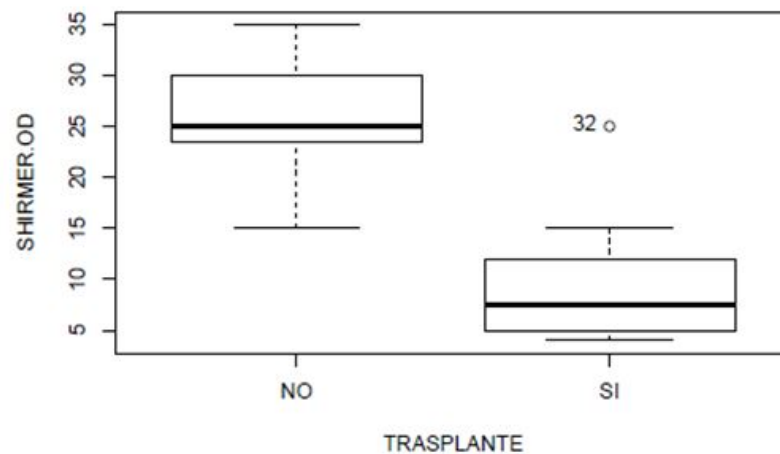


Figura 4.27 Comparación entre test de Schirmer de OD mediante Test de Wilcoxon $p=0$

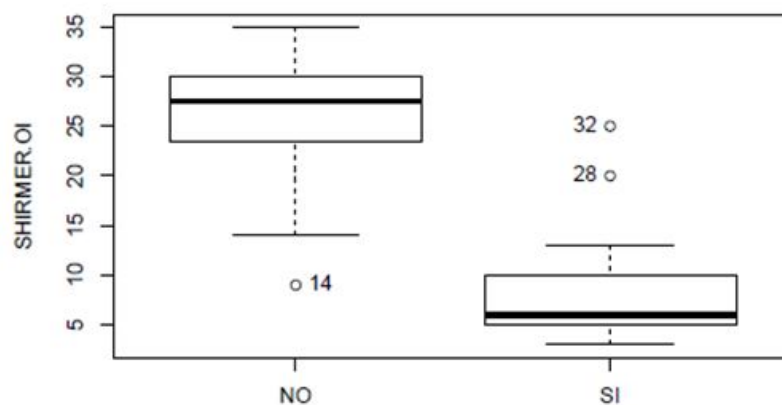


Figura 4.28 Comparación de test de Schirmer OI mediante Test de Wilcoxon $p=0.0005$

c) Test de OSDI :

En el grupo EICH la media del test de OSDI fue de 47.1, mientras que en el grupo control el 100 % de los casos presentaron un test de OSDI de 10.4, el valor mínimo correspondiente a buena calidad visual. Es decir, hay una diferencia estadísticamente significativa en la medición de dicho parámetro intergrupos [$p=0$] (ver figura 4.29).

- Media Grupo 2: 47.1
- Media Grupo 3: 10.4

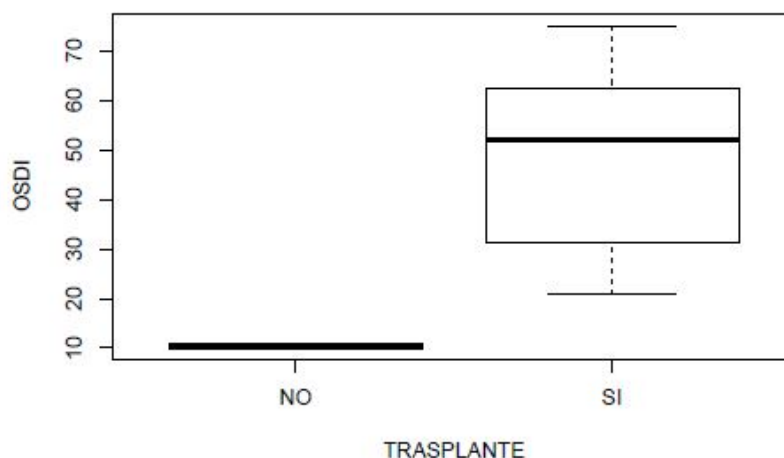


Figura 4.29 Comparación de test de OSDI mediante Test de Wilcoxon $p=0$.

d) Paquimetría corneal del centro, ápex y punto más fino mediante topografía:

No se han demostrado diferencias estadísticamente significativas en cuanto a los valores paquimétricos de ápex [OD $p=0.99$ // OI $p=0.98$], punto más fino [OD $p=0.99$ // OI $p=0.98$] y centro corneal [OD $p=0.99$ // OI $p=0.99$] (ver figuras 4.30, 4.31, 4.32, 4.33, 4.34, 4.35).

Central:

Ojo derecho:

- Media Grupo 2: 575
- Media Grupo 3: 544.3

Ojo izquierdo:

- Media Grupo 2: 591
- Media Grupo 3: 550

Ápex:

Ojo derecho:

- Media Grupo 2: 591

- Media Grupo 3:544

Ojo izquierdo:

- Media Grupo 2:589
- MMedia Grupo 3:553

Punto más fino:

Ojo derecho:

- Media Grupo 2:575
- Media Grupo 3:538

Ojo izquierdo:

- Media Grupo 2:573
- Media Grupo 3:545.6

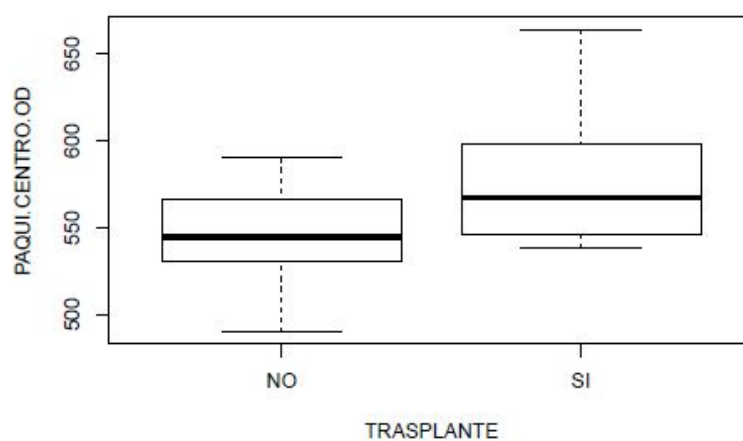


Figura 4.30 Comparación entre paquimetrías centrales de OD mediante test T de Student $p=0.99$

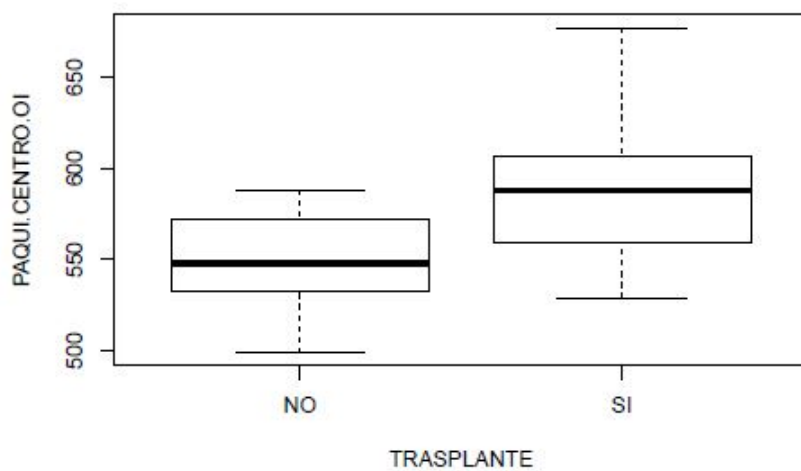


Figura 4.31 Comparación entre paquimetrías centrales de OI mediante test T de Student OI $p=0.98$

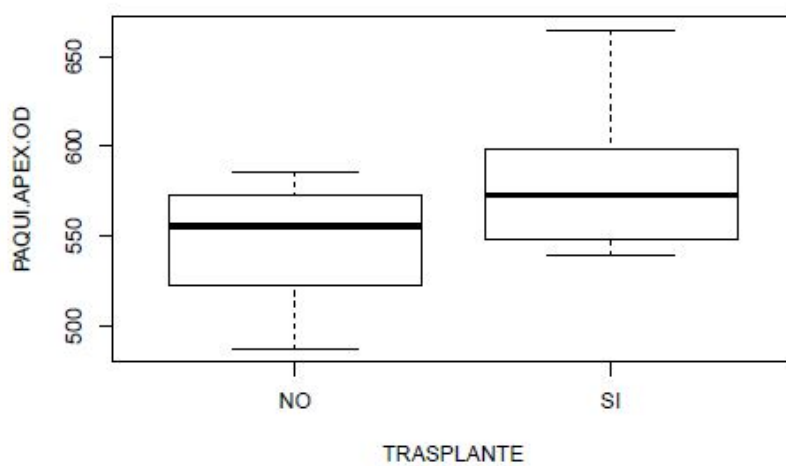


Figura 4.32 Comparación de paquimetrías en el ápex de OD mediante T de Student $p=0.99$

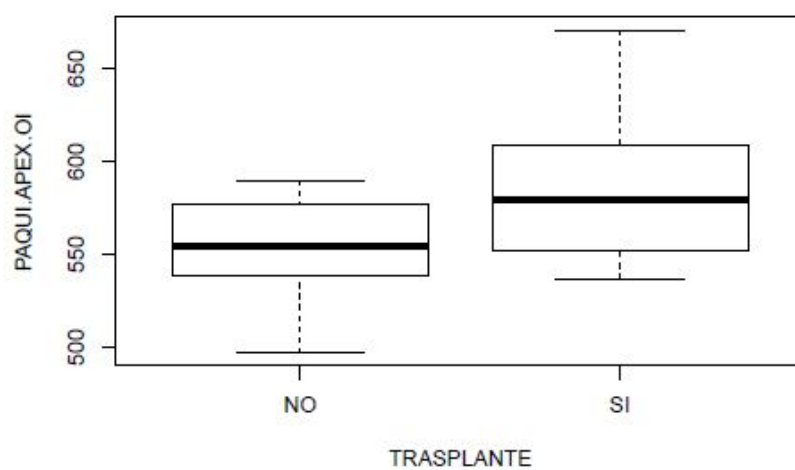


Figura 4.33 Comparación entre paquimetrías del ápex OI mediante test T de Student $p=0.98$

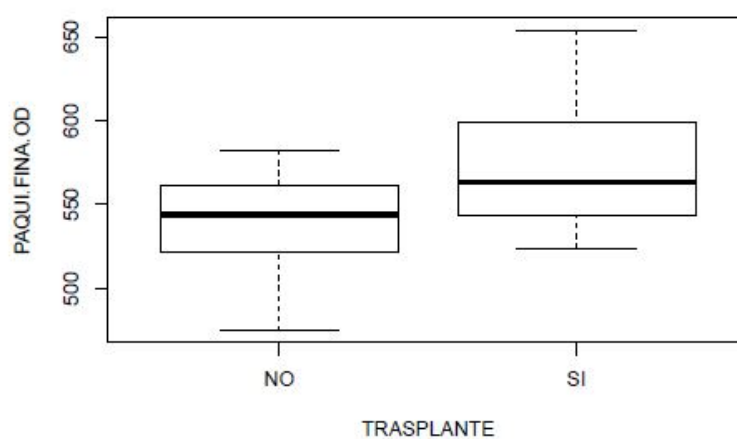


Figura 4.34 Comparación de paquimetrías en punto más fino de OD mediante test T de Student $p=0.99$

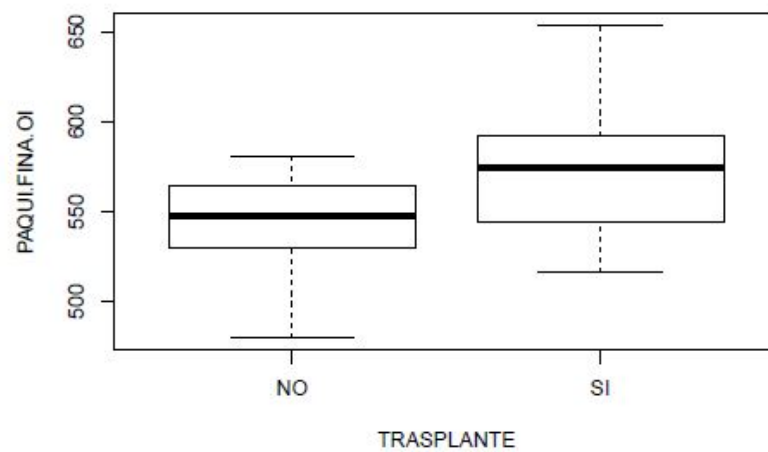


Figura 4.35 Comparación de paquimetrías en punto más fino de OI mediante test T de Student
OD $p=0.99$

e) Queratometrías de la cara anterior corneal mediante Topografía :

Con respecto al cambio de K1 y K2 en pacientes EICH no se observan diferencias significativas desde el punto de vista estadístico tanto para K1 [OD $p=0.28$ // OI $p=0.14$] como para K2 [OD $p=0.86$ // OI $p=0.88$], los valores permanecen estables (ver figuras 4.36, 4.37, 4.38, 4.39).

K1:**Ojo derecho:**

- Media Grupo 2: 42.1
- Media Grupo 1 Visita 2: 42.8

Ojo izquierdo:

- Media Grupo 2: 42.3
- Media Grupo 3: 43.1

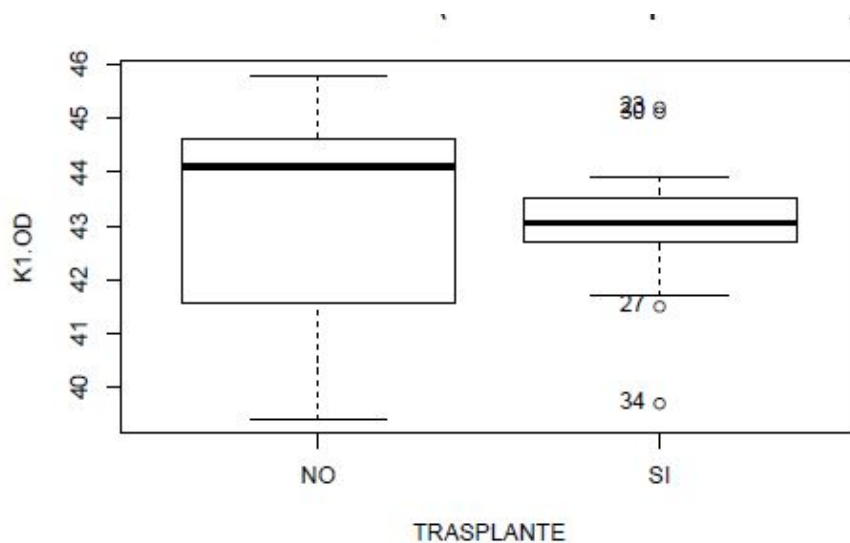


Figura 4.36 Comparación de K1 en OD mediante test T de Student $p= 0.28$

K2:**Ojo derecho:**

- Media Grupo 2: 44

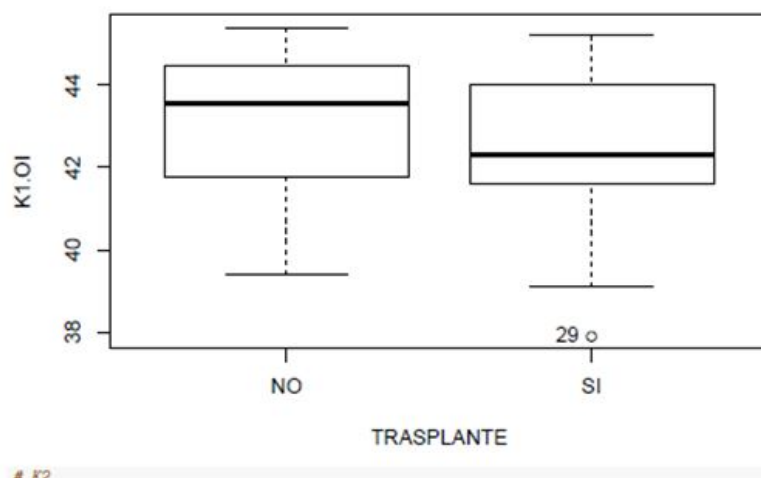


Figura 4.37 Comparación de K1 en OI mediante test T de Student $p=0.14$

- Media Grupo 3:43.3

Ojo izquierdo:

- Media Grupo 2:43.9
- Media Grupo 3:43.16

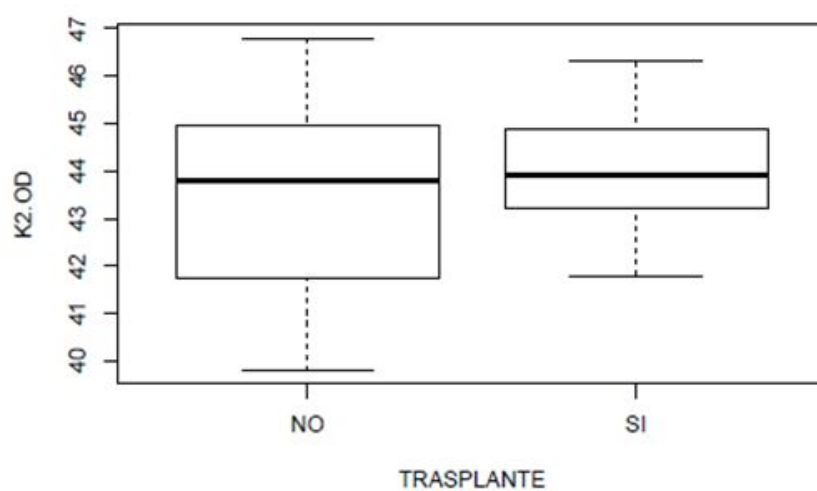


Figura 4.38 Comparación entre K2 de OD mediante test T de Student $p=0.86$

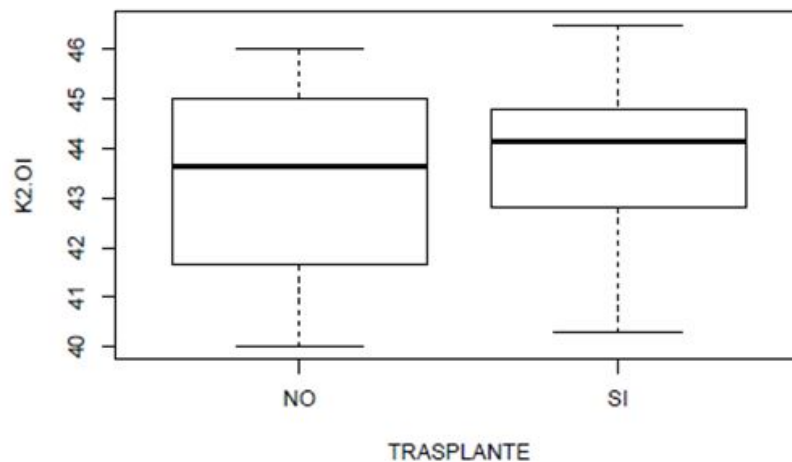


Figura 4.39 Comparación entre K2 OI mediante test T de Student $p=0.88$

f) Escala de Oxford :

En cuanto al grado de tinción corneal diferencial la diferencia entre el grupo EICH y el grupo control encontramos una gran diferencia significativa entre ellos para ambos ojos [OD $p=0$ // OI $p=0$] (ver figuras 4.40,4.41).

Ojo derecho:

- Media Grupo 2:2
- Media Grupo 3:0

Ojo izquierdo:

- Media Grupo 2: 2.07
- Media Grupo 3: 0

g) BUT test :

Con el objetivo de analizar los cambios en la evaporación lagrimal de los pacientes EICH con respecto a control, se vio que el BUT medio en el grupo EICH fue notablemente menor que el grupo control con significancia estadística [OD $p=0$ // OI $p=0$] (ver figuras 4.42,4.43).

Ojo derecho:

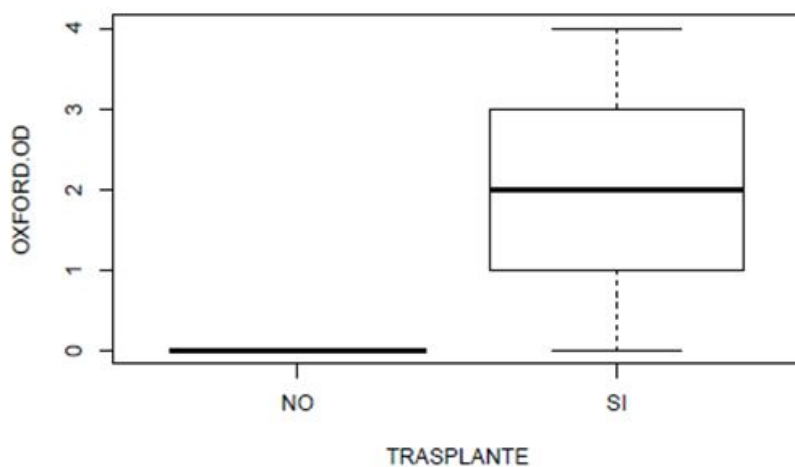


Figura 4.40 Comparación entre escalas de Oxford de OD mediante Test de Wilcoxon $p=0$.

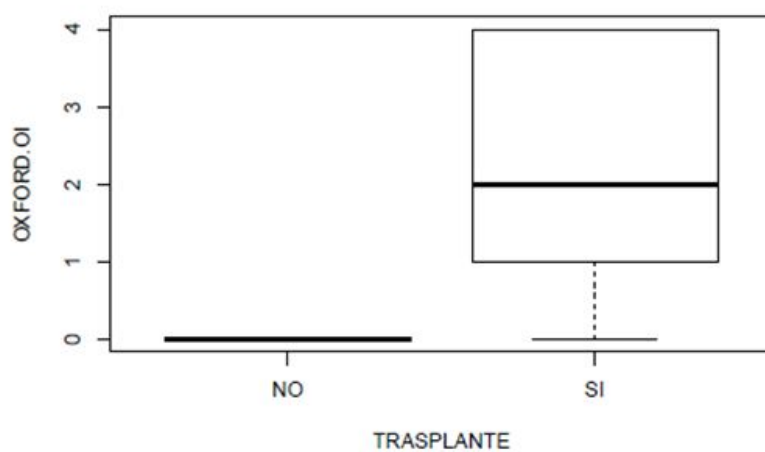


Figura 4.41 Comparación entre escalas de Oxford de OI mediante Test de Wilcoxon $p=0$

- Media Grupo 2: 6
- Media Grupo 3: 12.1

Ojo izquierdo:

- Media Grupo 2: 5.7
- Media Grupo 3: 12.3

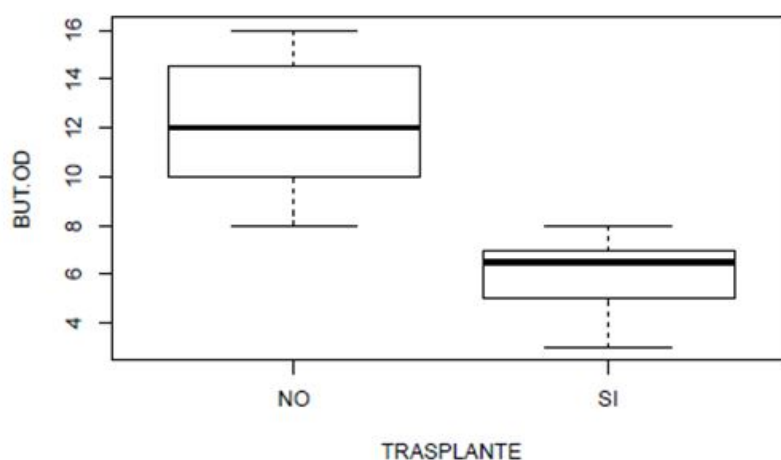


Figura 4.42 Comparación entre BUT test de OD mediante test T de Student $p=0$

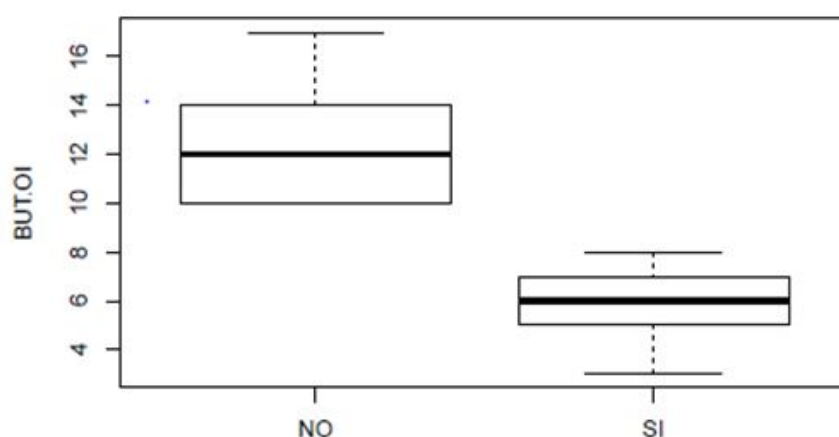


Figura 4.43 Comparación entre BUT test de OI mediante test T de Student $p=0$

h) Cambios Inmunohistoquímicos :

En lo que atañe a la actividad inflamatoria en la superficie ocular, la detección de Linfocitos CD8 en el grupo control fue 0, mientras que en pacientes EICH resultaron 17 muestras positivas (8 pacientes bilaterales y 1 paciente unilateral en ojo derecho). Sí encontramos significación estadística en la comparación de esta variable mediante test de Fisher en ambos ojos [OD $p=0.00004$ // OI $p=0.00017$] (ver figuras 4.44, 4.45). Los datos de ambos ojos se representan en la tabla 4.6

Los resultados del análisis comparativo se representan en la tabla 4.7:

PRESENCIA LINFOCITOS CD8	EICH OCULAR	CONTROLES
CD8+ EN OJO DERECHO	9	0
CD8+ EN OJO IZQUIERDO	8	0

Tabla 4.6 Presencia de Linfocitos CD8 según EICH ocular

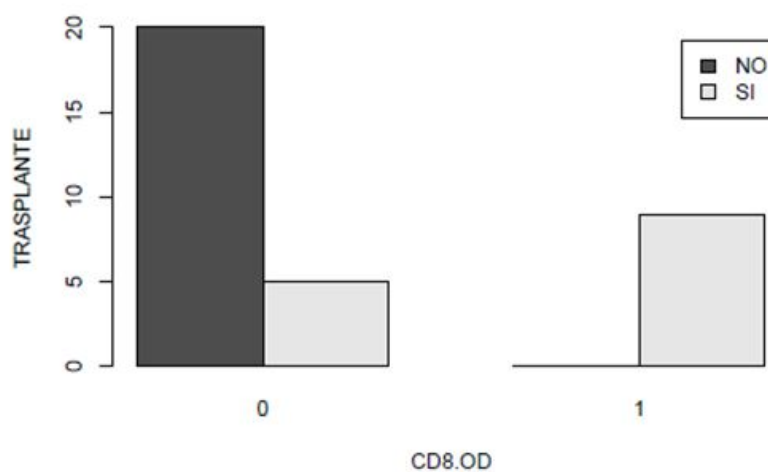


Figura 4.44 Comparación entre muestras conjuntivales de OD según presencia o ausencia de linfocitos mediante Test de Fisher $p=0.00004$

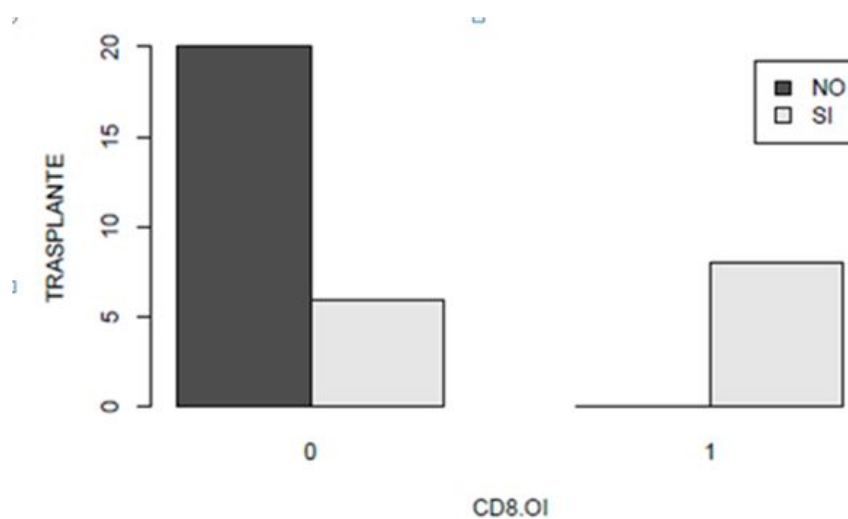


Figura 4.45 Comparación entre muestras conjuntivales de OI según presencia o ausencia de linfocitos mediante test de Fisher $p=0.00017$

VARIABLE	MEDIA EN GRUPO 2	MEDIA EN GRUPO 3	SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA
AV OD	0.77	0.95	0.0001
AV OI	0.77	0.98	0.0001
SCHIRMER OD	9.4	26.4	0
SCHIRMER OI	8.64	25.8	0.0005
OSDI	47.1	10.4	0
BUT OD	6	12.1	0
BUT OI	5.7	12.3	0
OXFORD OD	2	0	0
OXFORD OI	2.07	0	0
PAQUI CENTRAL OD	575	544.3	0.99
PAQUI CENTRAL OI	591	550	0.99
PAQUI APEX OD	591	544	0.99
PAQUI APEX OI	589	553	0.98
PAQUI FINA OD	575	538	0.99
PAQUI FINA OI	573	545	0.98
K1 OD	42.1	43.3	0.28
K1 OI	42.3	43.1	0.14
K2 OD	44	43.3	0.86
K2 OI	43.9	43.16	0.88
CD8+ OD	9	0	0.0005
CD8+ OI	8	0	0.0001

Tabla 4.7 Análisis comparativo Rama 2

4.2.3. Análisis comparativo entre pacientes con EICH ocular (Grupo 2) y pacientes tratados mediante TPH sin EICH ocular (Grupo 1)

Este análisis compara la diferencia de las medias de los datos recogidos para cada variable entre la grupo 2 (pacientes con EICH ocular) y la segunda visita (post-trasplante) del grupo 1.

Los resultados para cada una de las variables analizadas son los siguientes:

a) Agudeza visual :

No se encontraron diferencias significativas entre las Agudeza visual de los pacientes sometidos a TPH con EICH y aquellos sometidos a TPH sin EICH [OD $p=0.11$ // OI $p=0.07$] (ver figuras 4.46 y 4.47).

Ojo derecho:

- Media Grupo 1 Visita 2: 0.77
- Media Grupo 2: 0.8

Ojo izquierdo:

- Media Grupo 1 Visita 2: 0.81
- Media Grupo 2: 0.77

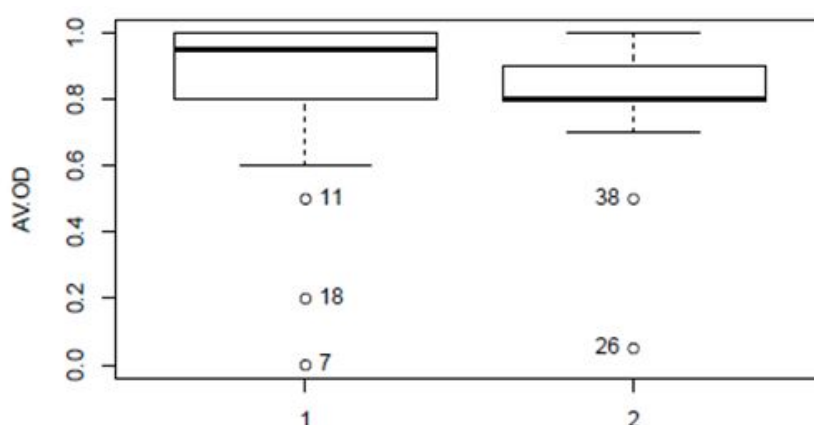


Figura 4.46 Comparación entre AV de OD mediante Test de Wilcoxon OD $p=0.11$

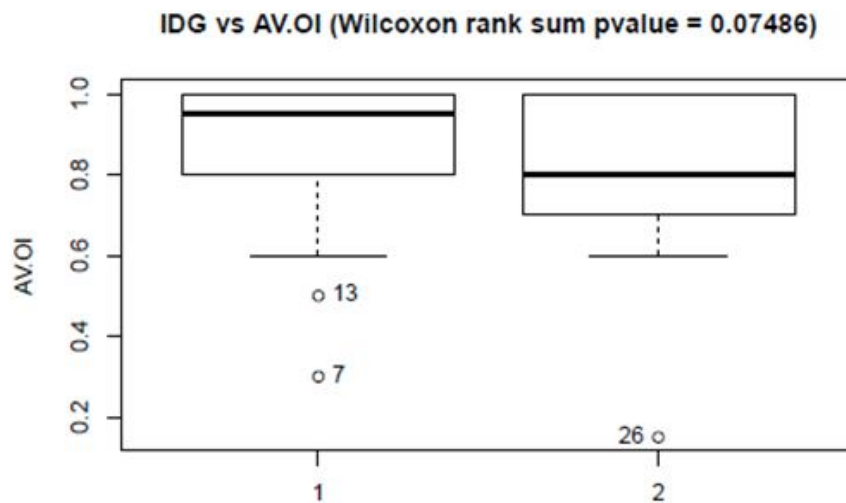


Figura 4.47 Comparación entre AV OI mediante Test de Wilcoxon OD $p=0.07$

b) Test de Schirmer :

En el grupo EICH encontramos valores del test de Schirmer menores que en el grupo de TPH sin EICH, resultando en ambos ojos similar y de forma estadísticamente significativa [OD $p=0.001$ // OI $p=0.00015$] (Ver figuras 4.48 4.49)

Ojo derecho:

- Media Grupo 1 Visita 2: 15.46
- Media Grupo 2: 9.4

Ojo izquierdo:

- Media Grupo 1 Visita 2: 15.57
- Media Grupo 2: 8.64

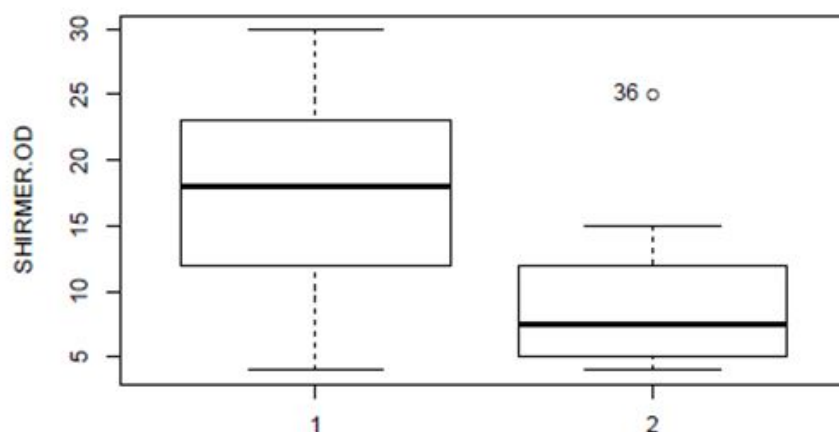


Figura 4.48 Comparación entre test de Schirmer de OD mediante Test de Wilcoxon $p=0.001$

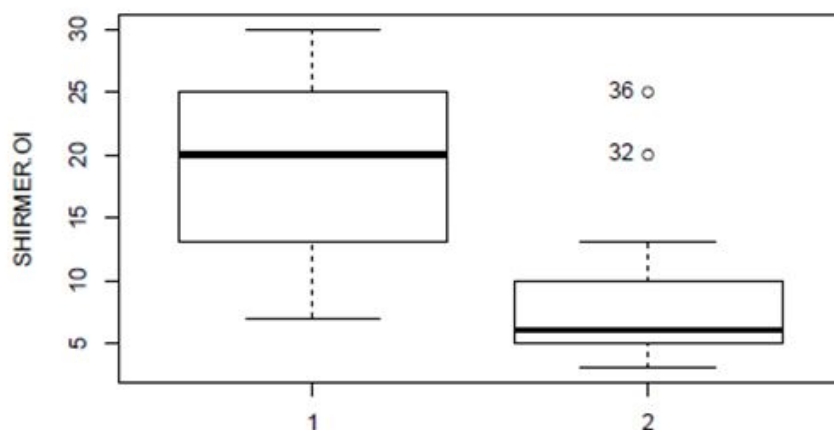


Figura 4.49 Comparación de test de Schirmer OI mediante Test de Wilcoxon $p=0.00015$

c) Test de OSDI :

Hemos observado una diferencia estadísticamente significativa que muestra mayor nivel en el test de OSDI en los pacientes EICH que en los pacientes sometidos a TPH sin EICH [$p=0.00005$] (ver figura 4.50).

- Media Grupo 1 Visita 2: 16.9
- Media Grupo 2 Visita 1: 47.1

d) Paquimetría corneal del centro, ápex y punto más fino mediante topografía:

En cuanto a los niveles paquimétricos, no hemos encontrado diferencias estadística-

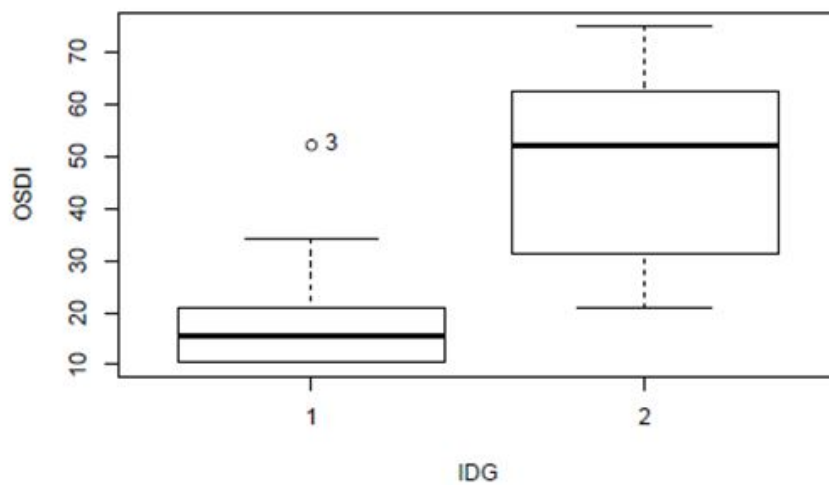


Figura 4.50 Comparación de test de OSDI mediante Test de Wilcoxon $p=0.00005$

mente significativas en el ápex [OD $p=0.54$ // OI $p=0.69$], del centro [OD $p=0.5$ // OI: $p=0.86$] ni punto más fino [OD $p=0.69$ // OI $p=0.58$] entre ambos grupos (ver figuras 4.51, 4.52, 4.53, 4.54, 4.55, 4.56).

Central:

Ojo derecho:

- Media Grupo 1 Visita 2: 565
- Media Grupo 2: 575

Ojo izquierdo:

- Media Grupo 1 Visita 2: 571
- Media Grupo 2: 591

Ápex:

Ojo derecho:

- Media Grupo 1 Visita 2: 570
- Media Grupo 2: 591

Ojo izquierdo:

- Media Grupo 1 Visita 2: 575
- Media Grupo 2: 589

Punto más fino:Ojo derecho:

- Media Grupo 1 Visita 2: 550
- Media Grupo 2: 575

Ojo izquierdo:

- Media Grupo 1 Visita 2: 555
- Media Grupo 2: 573

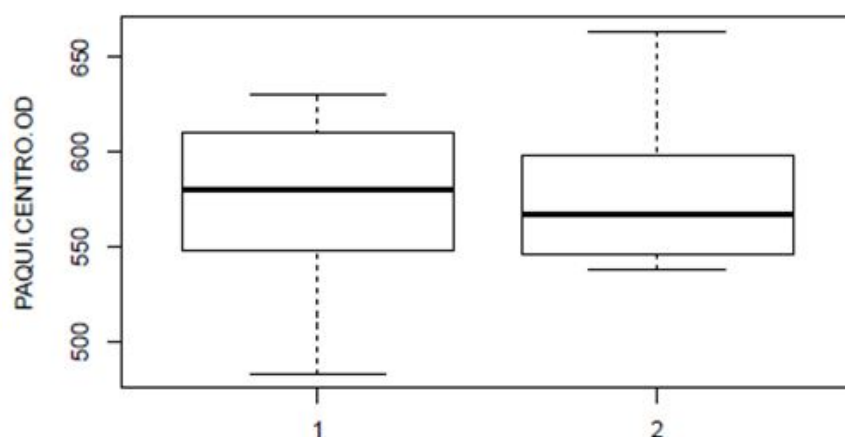


Figura 4.51 Comparación entre paquimetrías centrales de OD mediante test T de Student $p=0.5$

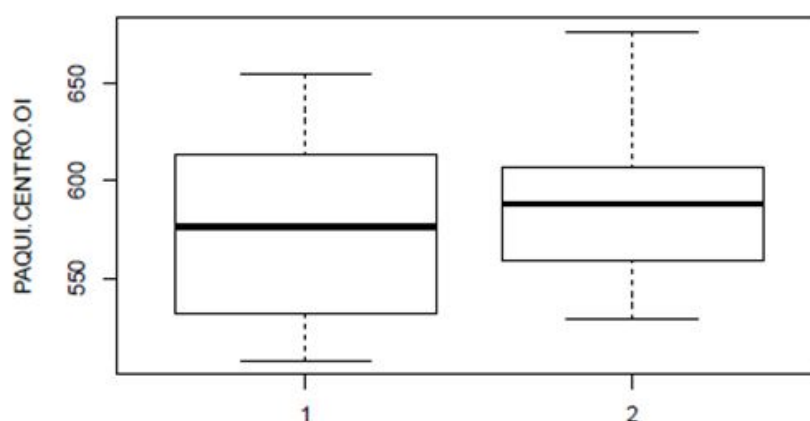


Figura 4.52 Comparación entre paquimetrías centrales de OI mediante test T de Student OI $p=0.86$

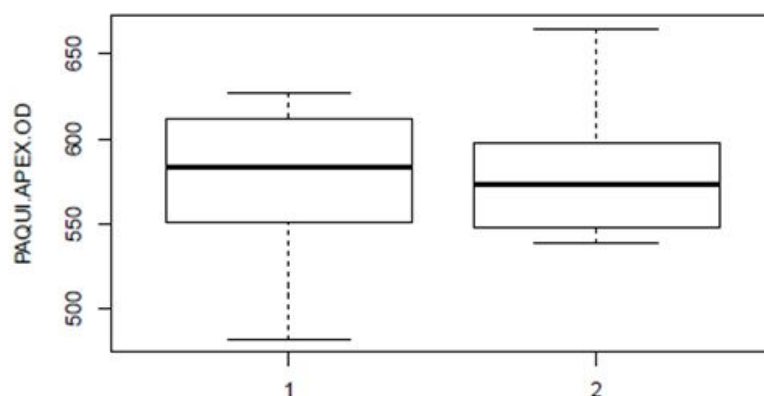


Figura 4.53 Comparación de paquimetrías en el ápex de OD mediante T de Student $p=0.54$

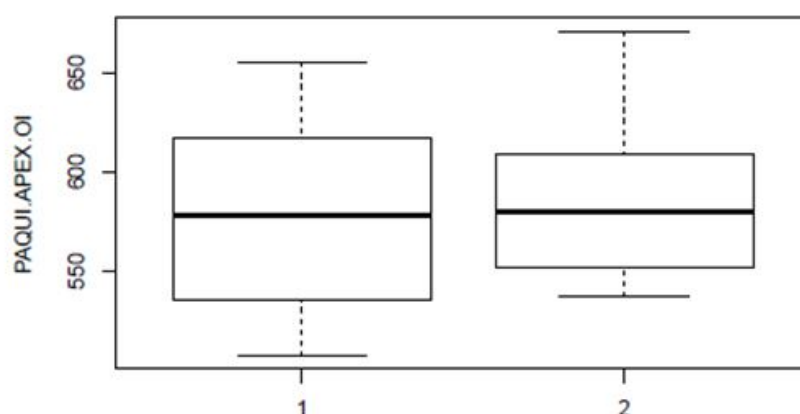


Figura 4.54 Comparación entre paquimetrías del ápex OI mediante test T de Student $p=0.78$

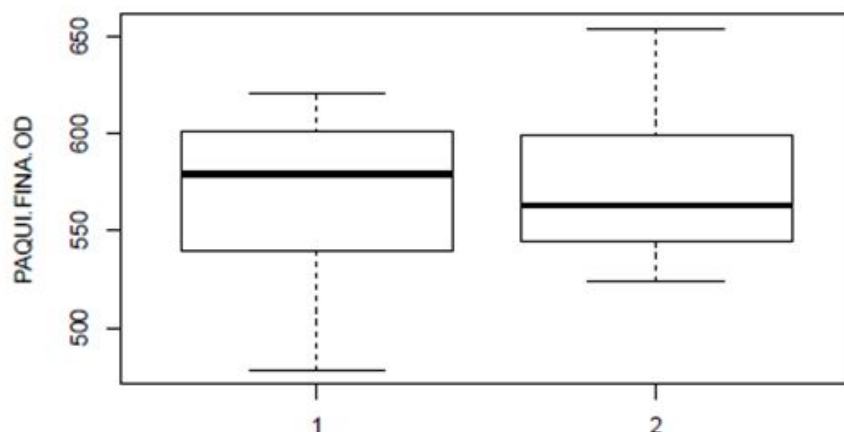


Figura 4.55 Comparación de paquimetrías en punto más fino de OD mediante test T de Student OD $p=0.69$

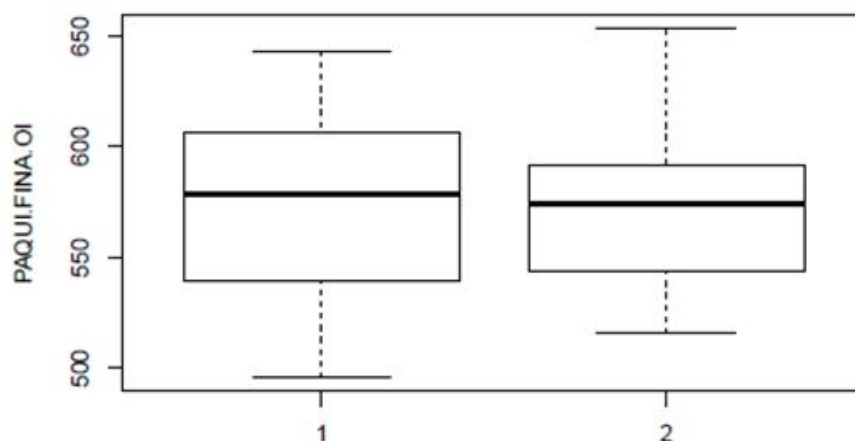


Figura 4.56 Comparación de paquimetrías en punto más fino de OI mediante test T de Student OD $p=0.58$

e) Queratometrías de la cara anterior corneal mediante Topografía :

K1:

Con respecto a las queratometrías, no encontramos diferencias significativas en la K1 [OD $p=0.77$ // OI $p=0.08$] ni K2 [OD $p=0.73$ // OI $p=0.33$] de la cara anterior corneal entre el grupo EICH y el grupo TPH sin EICH (ver figuras 4.57, 4.58, 4.59, 4.60).

K1:

Ojo derecho:

- Media Grupo 1 Visita 2: 42.8
- Media Grupo 2: 42.1

Ojo izquierdo:

- Media Grupo 1 Visita 2: 42.5
- Media Grupo 2: 42.3

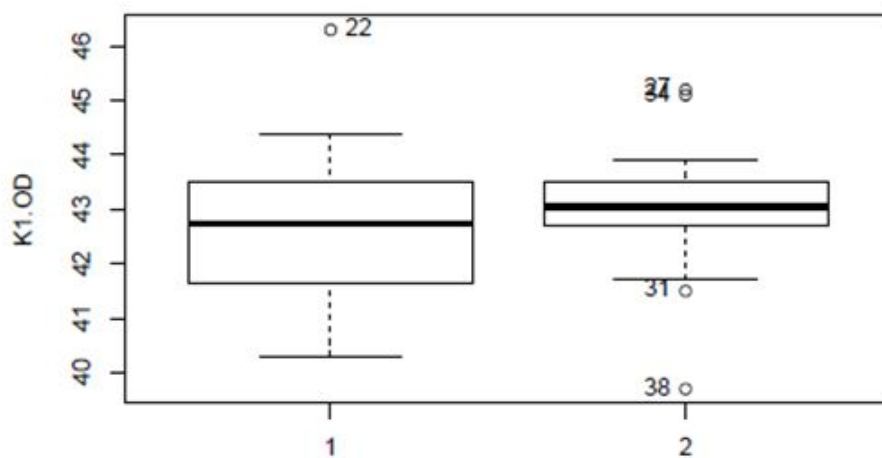


Figura 4.57 Comparación de K1 en OD mediante test T de Student $p=0.7$

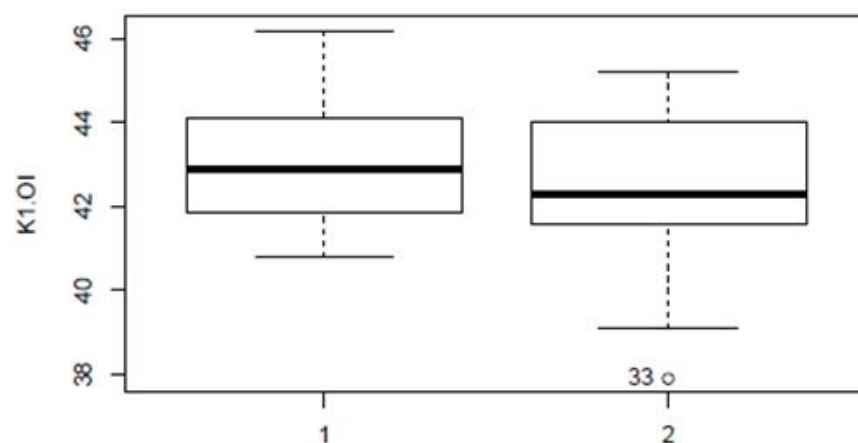


Figura 4.58 Comparación de K1 en OI mediante test T de Student $p=0.08$

K2:**Ojo derecho:**

- Media Grupo 1 Visita 2: 44

- MMedia Grupo 2: 44

Ojo izquierdo:

- Media Grupo 1 Visita 2: 43.7

- Media Grupo 1 Visita 2: 43.7

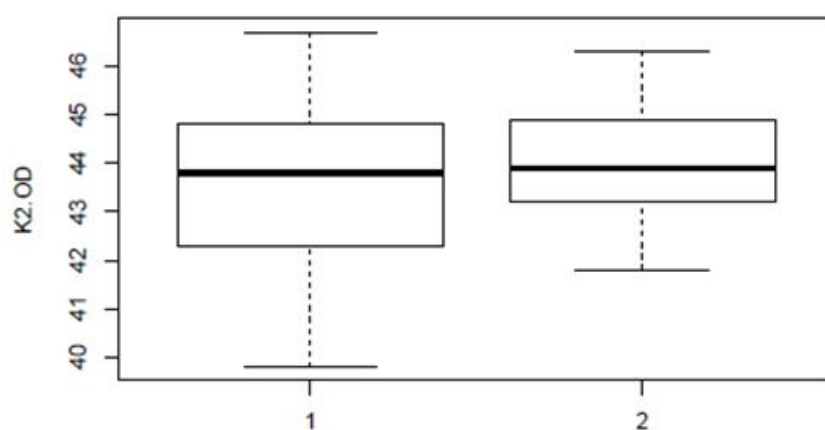


Figura 4.59 Comparación entre K2 de OD mediante test T de Student $p=0.73$

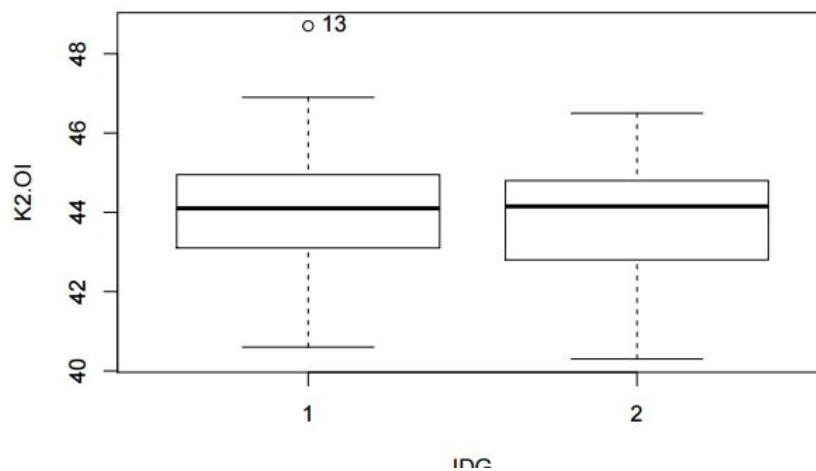


Figura 4.60 Comparación entre K2 OI mediante test T de Student $p=0.33$

f) Escala de Oxford :

En cuanto al grado de tinción corneal diferencial la diferencia entre el grupo EICH y el grupo TPH muestra significancia estadística, con valores más aumentados para el Grupo2 y rangos mayores en ojo derecho [OD $p=0.0001$ // OI $p=0.003$](ver figuras 4.61,4.62).

Ojo derecho:

- Media Grupo 1 Visita 2: 0.46
- MMedia Grupo 2: 2

Ojo izquierdo:

- Media Grupo 1 Visita 2: 0.54
- Media Grupo 2: 2.07

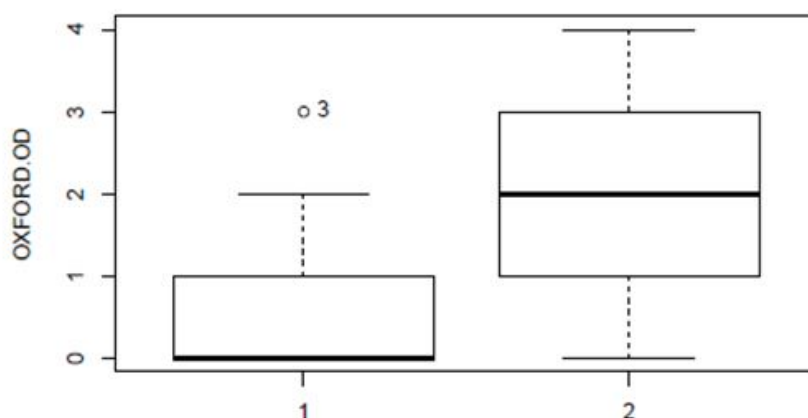


Figura 4.61 Comparación entre escalas de Oxford de OD mediante Test de Wilcoxon $p=0.0001$

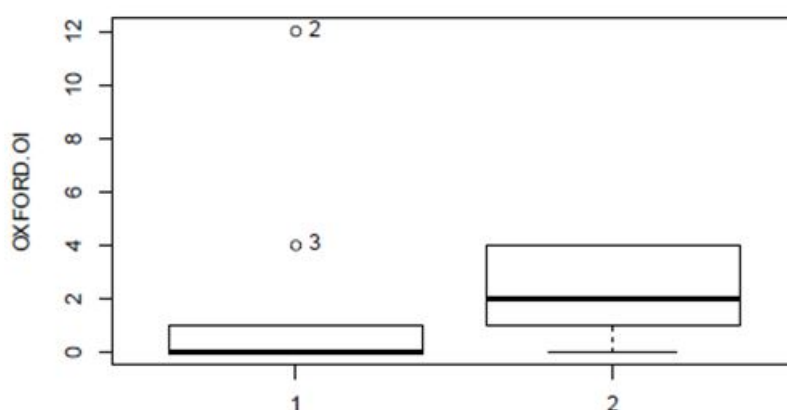


Figura 4.62 Comparación entre escalas de Oxford de OI mediante Test de Wilcoxon $p=0.003$

g) BUT test :

Con el objetivo de analizar los cambios en la evaporación lagrimal de los pacientes EICH con respecto a TPH no EICH, se vio que el BUT medio en EICH es menor para ambos ojos, con significancia estadística [OD $p=0.0001$ // OI $p=0.0001$] (ver figuras 4.63,4.64).

Ojo derecho:

- Media Grupo 1 Visita 2: 8.26
- Media Grupo 2: 6

Ojo izquierdo:

- Media Grupo 1 Visita 2: 6.3

- Media Grupo 2: 5.7

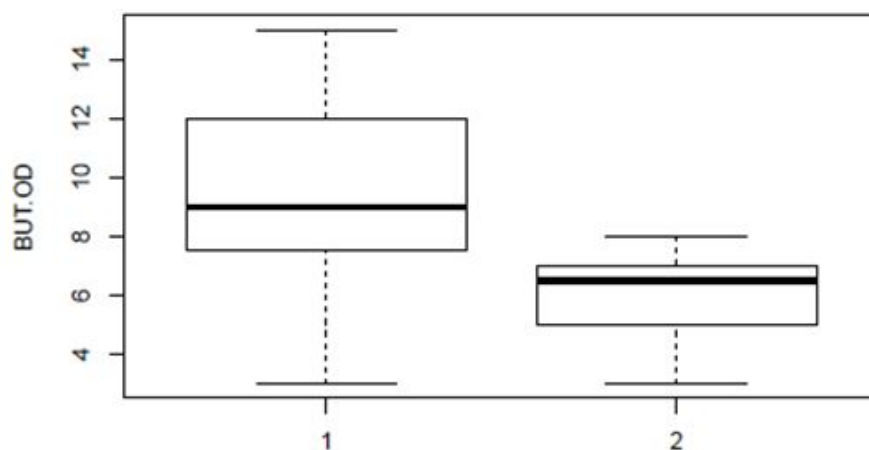


Figura 4.63 Comparación entre BUT test de OD mediante test T de Student $p=0.0001$

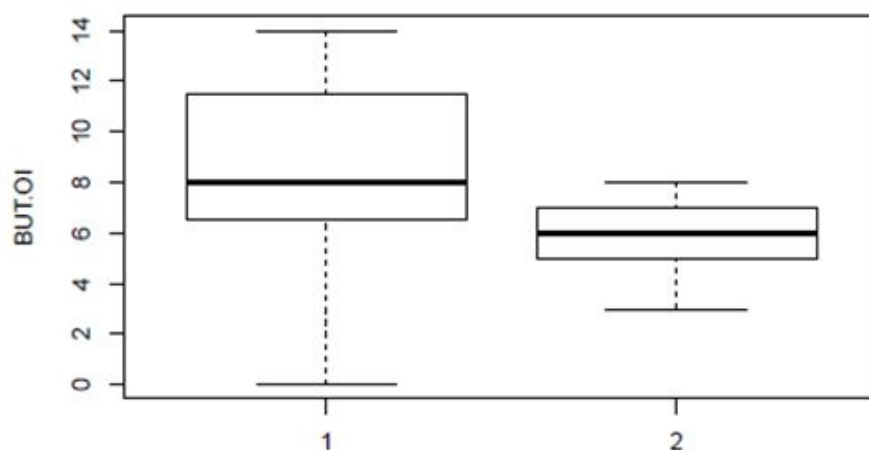


Figura 4.64 Comparación entre BUT test de OI mediante test T de Student $p=0.0001$

PRESENCIA LINFOCITOS CD8	EICH OCULAR	TRAS TPH SIN EICH OCULAR
CD8+ EN OD	9	7
CD8+ EN OI	8	6

Tabla 4.8 Presencia de Linfocitos CD8+ en EICH y en TPH sin EICH.

h) Cambios Inmunohistoquímicos :

En cuanto a la actividad inflamatoria en la superficie ocular encontramos que en el Grupo EICH hay 17 muestras conjuntivales positivas a CD8 (9 en OD y 8 en OI), mientras que en el grupo sometido a TPH sin EICH tenemos 13 muestras positivas para CD8 (7 en OD y 6 en OI). No encontramos diferencias estadísticamente significativas en el grupo EICH con respecto al grupo sometido a TPH sin EICH, comprobado mediante test de Fisher [OD $p=1$ // OI $p=1$] (ver figuras 4.65,4.66). Los datos de ambos ojos se representan en la tabla 4.8

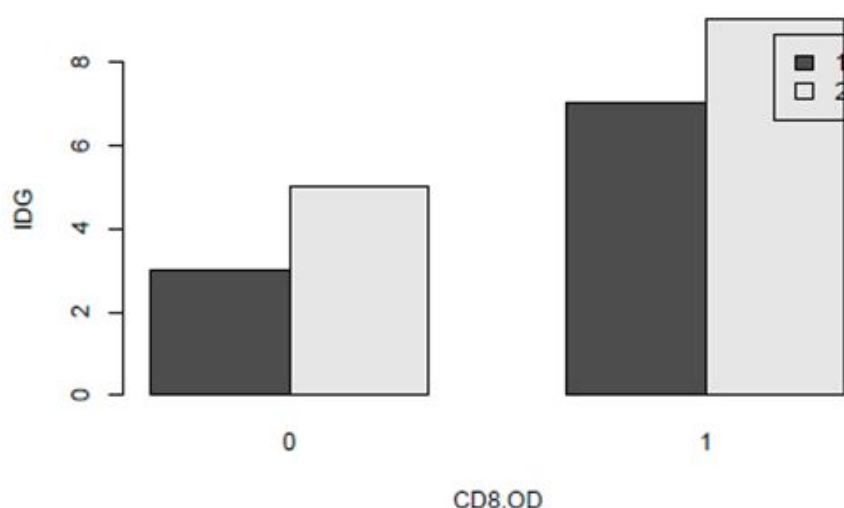


Figura 4.65 Comparación entre muestras conjuntivales de OD según presencia o ausencia de linfocitos mediante Test de Fisher $p=1$

Los resultados del análisis comparativo se resumen en la tabla 4.9:

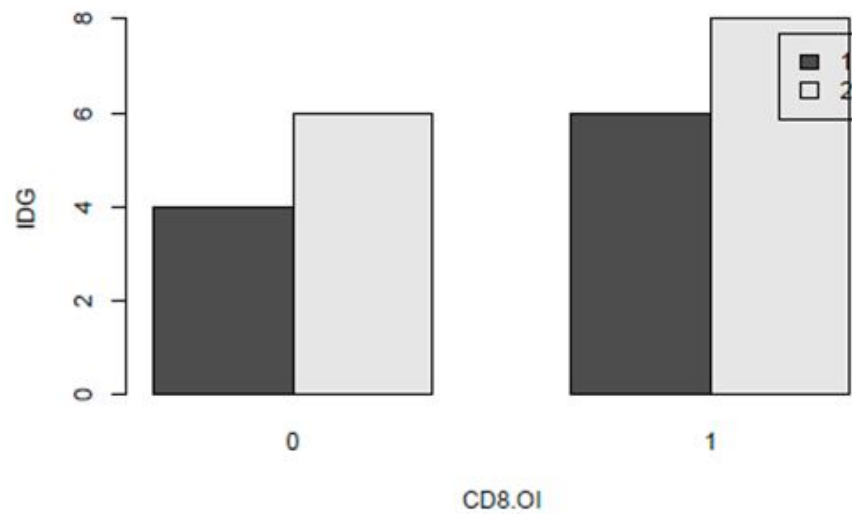


Figura 4.66 Comparación entre muestras conjuntivales de OI según presencia o ausencia de linfocitos mediante test de Fisher $p=1$

VARIABLE	MEDIA EN GRUPO 2	MEDIA EN VISITA 2 DE GRUPO 1	SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA
AV OD	0.8	0.77	0.11
AV OI	0.81	0.77	0.07
SCHIRMER OD	15.45	9.4	0.0001
SCHIRMER OI	15.57	8.64	0.00015
OSDI	16.9	47.1	0.0005
BUT OD	8.26	6	0.00019
BUT OI	6.3	5.7	0.014
OXFORD OD	0.46	2	0.0004
OXFORD OI	0.54	2.07	0.0003
PAQUI CENTRAL OD	565	575	0.5
PAQUI CENTRAL OI	571	591	0.86
PAQUI APEX OD	570	591	0.54
PAQUI APEX OI	575	589	0.78
PAQUI FINA OD	550	575	0.69
PAQUI FINA OI	555	573	0.58
K1 OD	42.8	42.1	0.57
K1 OI	42.5	42.3	0.089
K2 OD	44	44	0.73
K2 OI	43.5	43.9	0.33
CD8+ OD	7	9	1
CD8+ OI	6	8	1

Tabla 4.9 Análisis comparativo Rama 3



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

DISCUSIÓN

La enfermedad injerto contra huésped es la complicación más frecuente (30-70 %) tras un trasplante de precursores hematopoiéticos en pacientes con enfermedad hematológica.

Las complicaciones más importantes se dan en la piel y mucosas; el sistema digestivo, y el hígado.

Podemos discernir entre EICH agudo y EICH crónico en función del momento de la presentación del cuadro y de los resultados histológicos.

En el caso de la afectación ocular, el trastorno se da entre un 40 y un 60 % de pacientes con EICH sistémico (normalmente encuadrado en la forma crónica) y las manifestaciones más características engloban la queratoconjuntivitis sicca, conjuntivitis pseudomembranosa, úlceras corneales y disfunción de las glándulas de Meibomio. Otras manifestaciones más graves y menos frecuentes son la cicatrización conjuntival y de la vía lagrimal; úlcera neurotrófica, e incluso perforación corneal. La incidencia de EICH en el año 2016 en nuestro centro ha sido del 23 % para la forma aguda y del 9 % para la forma crónica. Respecto al EICH ocular solo un 1 % ha sido considerado como tal.

Nuestro estudio se basa en la caracterización de la superficie ocular en los pacientes trasplantados de forma alogénica de precursores hematopoiéticos, presenten o no una enfermedad injerto contra huésped, ya que los criterios de EICH ocular no están claramente definidos.

Hemos analizado 120 ojos entre los 3 grupos pertenecientes a pacientes vistos antes y después (100 días) de un TPH, pacientes con EICH ocular y personas de un grupo control. Hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas en las siguientes variables:

- Test de OSDI (calidad visual).
- Test de Oxford (grado de queratitis).

- BUT test (tiempo de evaporación lagrimal).
- Presencia de linfocitos CD8+ en conjuntiva (actividad inflamatoria).

De estas variables: el Test de OSDI, la Escala de Oxford y BUT test se han visto más afectadas en el grupo de EICH ocular seguidas del Grupo sometidos a TPH sin EICH y seguidas del Grupo Control.

La presencia de linfocitos se ve aumentada de forma similar en el Grupo EICH y en el grupo sometido a TPH sin EICH. No se encuentran linfocitos en el grupo control

En el resto de variables analizadas: Agudeza visual, Paquimetría corneal, Queratometría corneal y test de Schirmer no encontramos cambios estadísticamente significativos.

A continuación, haremos una discusión desglosada de cada uno de los resultados encontrados en nuestro estudio.

Con respecto al **número** de ojos analizados fue de 120 pertenecientes a 60 pacientes: 26 pacientes del grupo 1, 14 pacientes del grupo 2 y 20 pacientes del grupo 3. El factor que determina la variabilidad numérica la da la diferencia de tipo de estudio de cada Rama. La Rama 1 (que comprende a los pacientes del Grupo 1) es un estudio longitudinal, por lo que engloba a todos los pacientes tratados mediante TPH en una determinada fecha (entre Marzo de 2015 y Septiembre de 2016, desechando todos los pacientes no reclutables y los fallecimientos), mientras que la Rama 2 se trata de un estudio de casos y controles realizado en un momento determinado en el tiempo, por lo que engloba a los pacientes con EICH ocular en el momento de selección y su control apareado.

En relación al **sexo**, 36 eran varones (18 del grupo 1, 8 en el grupo 2 y 10 en el grupo 3) y 24 mujeres (8 en el grupo 1, 6 en el grupo 2 y 10 en el grupo 3). Esta diferencia en el número de pacientes según sexo se explica por la mayor incidencia de enfermedad hematológica en hombres en nuestro país: incidencia en hombres 21.7casos/100000hab y en mujeres 16.17/100000 habitantes (Datos actualizados de 2016 en página de SEOM: Sociedad Española de Oncología Médica), por lo que tenemos en nuestra muestra un mayor número de varones que se someten a TPH y por tantos subsidiarios de padecer EICH. Esta diferencia no se refleja en el Grupo 3 (Grupo Control) ya que se ha tratado de obtener un grupo lo más homogéneo posible con el mismo número de varones que mujeres. Esto podría generar un sesgo de confusión en el Grupo 1, ya que la mayoría de los sujetos son varones y no se ha tenido en cuenta para determinar si las variables analizadas están sujetas al sexo.

Con respecto a la **edad**, los pacientes de los 3 grupos tienen homogeneidad en la edad media, siendo la media de edad de todos los pacientes estudiados de 49.6 (obteniendo una media de edad de 47 en el grupo 1, 51 en el grupo 2 y 49 en el grupo 3), no habiendo diferencias significativas entre los 3 grupos.

De los pacientes estudiados, 3 fueron excluidos por fallecimiento antes de los 100 días transcurridos tras el TPH (pacientes del Grupo 1).

La **agudeza visual** se mantiene estable tras el TPH tal y como se describe resultados descritos en la Rama 1. Los pacientes tratados mediante TPH mantienen las mismas agudezas visuales antes y después del mismo, sin evidencia de cambio estadísticamente significativo. Esto concuerda con los estudios realizados por Allan et al.⁶⁴ que describen que un 96 % de sus pacientes tratados mediante TPH (con EICH) mantenían una AV igual a la que tenían antes, a pesar de los cambios en la superficie ocular como queratitis, conjuntivitis pseudomembranosa y fibrosis. Los autores atribuían el cambio visual únicamente a los pacientes que habían desarrollado cataratas durante el proceso. Sin embargo en la Rama 2, encontramos un cambio estadísticamente significativo para la agudeza visual de OD (ojo derecho) y de OI (Ojo izquierdo) en los pacientes con EICH ocular manifiesto; no obstante, esto puede atribuirse al efecto de valores extremos de uno de los pacientes que desarrolló una retinopatía tipo Purtscher en el contexto de su enfermedad Injerto contra Huésped, lo que incide disminuyendo significativamente la agudeza visual media. En la Rama 3 no se observan diferencias en la agudeza visual estadísticamente significativas. A partir de nuestro estudio, podríamos considerar que la Agudeza Visual no es un parámetro alterado tras el trasplante de precursores hematopoiéticos, presenten o no una enfermedad injerto contra huésped.

En cuanto al **test de Schirmer**, nuestros resultados muestran una disminución en los valores de secreción con diferencias significativas en la Rama 2 y 3 y no significativas en la Rama 1. Es decir, el test de Schirmer se ve claramente disminuido en los pacientes con EICH ocular pero no en los pacientes tratados mediante TPH que no presentan EICH ocular. El Instituto nacional de salud definió la enfermedad injerto contra huésped ocular como el valor de Schirmer <5mm asociado a clínica en al menos un órgano. Filipovich¹⁸ considera que un test de Schirmer disminuido es un criterio de EICH ocular. Yoko Ogawa et al.⁹¹ incluso defienden el uso de test de Schirmer en el diagnóstico precoz de EICH crónico ocular y sistémico, alegando que los pacientes con test de Schirmer disminuido debieran tener exploraciones continuas o recibir mayor dosis de inmunosupresores para evitar el desarrollo de EICH. Sin embargo, y aunque claramente un Schirmer menor de 5 mm denota acuodeficiencia, creemos que es necesario la evaluación simultánea de otros parámetros oculares para el diagnóstico de EICH por la alta tasa de falsos positivos y negativos que puede dar esta prueba (uso de anestésico, variabilidad de secreción refleja, etc). Así como sería necesario revisar los criterios diagnósticos de EICH ocular. Nosotros hemos comprobado que por el mero hecho de tratarse mediante TPH no hay una diferencia estadísticamente significativa en el test de Schirmer, diferencia que sí

es observada en el EICH ocular diagnosticado; así que a tenor de nuestros resultados no lo consideramos como un rasgo preclínico de EICH sino como diagnóstico de EICH clínicamente manifiesto.

En relación al **test de OSDI**, en nuestro estudio podemos observar una diferencia estadísticamente significativa en las 3 ramas de trabajo, siendo las diferencias más notables para la Rama 2 seguidas de la Rama 3. Esto representa que el factor de haber sido tratado TPH genera una disminución de la calidad visual, la cual a su vez es menor cuando además se desarrolla una enfermedad injerto contra huésped ocular. Yokoyama⁹¹ definió un consenso diagnóstico basado en test de OSDI, test de Schirmer, grado de tinción corneal y grado de inyección conjuntival. Según nuestros resultados podemos decir que mientras los cambios en el test de Schirmer, la tinción corneal e inyección conjuntival se detectan en EICH ocular establecido, el test de OSDI se utiliza para diagnóstico precoz. Además el hecho de que en el Grupo 2 obtengamos valores para OSDI mayores indica la correlación de la severidad clínica con la calidad visual. Nassar⁶ en sus publicaciones relacionaba la afectación del OSDI con el pronóstico sistémico, en el sentido de que los pacientes sin EICH pero con afectación en test de OSDI pudieran tener un peor pronóstico vital si tenemos en cuenta sus resultados. Sería interesante realizar en posteriores estudios una comparación entre los resultados en test de OSDI y el índice de calidad vital de Karnofsky (índice que valora la capacidad de enfermos oncológicos de realizar tareas de la vida cotidiana). En muchas ocasiones existe una disociación entre la exploración y la sintomatología, es ahí donde debemos usar cuestionarios de calidad visual como el que nosotros empleamos para dirigir nuestra actitud terapéutica. Hasanain¹⁷ describe el incremento de valores de OSDI en EICH ocular, sin embargo no diferencia entre población sana y sujetos tratados mediante TPH sin EICH; nuestro estudio concluye que el test de OSDI puede verse alterado a nivel subclínico, pudiendo usarse como herramienta de screening, estableciendo un valor determinado de OSDI que precise estrecha vigilancia oftalmológica o un mayor régimen inmunosupresor.

Con respecto al **test de ruptura de la película lagrimal**, hemos encontrado una disminución estadísticamente significativa en las 3 ramas de trabajo; siendo la mayor diferencia en la Rama 2. Estos resultados estadísticos concuerdan totalmente con nuestra presunta hipótesis, ya que observamos que, aunque la evaporación lagrimal se ve afectada tras el TPH, esta repercusión es mayor en el grupo de pacientes trasplantados sin EICH ocular (Grupo 1) que en los pacientes que sí presentan EICH ocular. Wang Ogawa et al.⁵⁶ sugieren que en la enfermedad injerto contra huésped ocular existe una disfunción de glándulas de Meibomio, aunque no aportan datos sobre la disminución del BUT test, probablemente porque aun siendo éste un test cuantitativo, la subjetividad del mismo hace que se trate

como un test cualitativo y no se objetiven correctamente las mediciones. Nosotros podemos concluir que el BUT test se ve disminuido en los pacientes tratados mediante TPH, cursen o no con un EICH ocular. Podemos decir que el BUT test se considera un hallazgo preclínico en el EICH ocular que complementando con el test de OSDI podría servir como screening para iniciar un tratamiento preventivo sobre la superficie ocular.

En relación a la **Escala de Oxford**, Nassar⁶ considera que el grado de queratitis punctata debería ser evaluado mediante test de Oxford y relacionado con el test de Schirmer para así establecer el diagnóstico de EICH si además el paciente tiene clínica en cualquier otro órgano. Así, los criterios clínicos de Jack⁵¹ para clasificar el EICH ocular agudo y crónico se verían obsoletos, ya que estos no tienen en cuenta la afectación corneal sino simplemente la conjuntival. Xihui³ define la necesidad de monitorización del grado de queratitis de estos pacientes, ya que un grado de Escala de Oxford mayor supone un riesgo de complicaciones corneales severas como úlceras y perforación corneal así como un riesgo de empeoramiento vital. En nuestro estudio hemos observado que el test de Oxford se ve aumentado de forma estadísticamente significativa en las 3 Ramas, siendo mayor en la Rama 2, después en la Rama 3. Esto quiere decir que efectivamente, tal y como habíamos supuesto, la escala de Oxford muestra mayor afectación en los pacientes trasplantados y sobre todo en el grupo de pacientes que ya ha desarrollado EICH ocular. Esto puede servirnos para monitorizar la severidad de EICH crónico y definir la necesidad terapéutica con lubricación, corticoides o inmunosupresores según el grado en la Escala de Oxford, así como valorar el grado de respuesta al tratamiento según la mejoría, ya que la escala de Oxford es menos subjetiva que el BUT (para el examinador) y que la escala de OSDI (para el paciente). El rango de los valores es mayor en el Grupo 2, ya que dentro de los pacientes con EICH ocular, el grado de severidad de la queratitis entre los diferentes pacientes era muy dispar. Hemos observado que tanto en la población sana como en pacientes hematológicos antes del trasplante, es raro encontrar queratitis, sin embargo casi todos los pacientes después del trasplante la presentaban.

Con respecto a la evaluación de los **grosos corneales**, la hipótesis de encontrar una córnea más adelgazada en el punto central, ápex y punto más fino se basa en la teoría de la remodelación morfológica corneal en pacientes con sequedad ocular avanzada como es el caso de nuestra población de estudio. Gunes et al.⁸⁸ evaluaron el grosor corneal en pacientes con ojo seco por artritis reumatoide, demostrando que el grosor central, grosor del ápex, grosor más fino y en los 4 puntos cardinales dentro de los 3mm centrales era más fino que en una población sana. Esta teoría fue apoyada también por Cingu et al.⁸⁹. Sin embargo no correlacionaron estos valores con datos de Schirmer, BUT, OSDI y Oxford y, más que debido a la sequedad ocular, esta disminución de espesor corneal podría

estar atribuida a la artritis reumatoide y la modificación del colágeno corneal en esta enfermedad. Meyer⁹⁰ sí estudió el grosor corneal por tomografía en el ojo seco aislado, concluyendo que todas las capas corneales se veían reducidas en grosor con respecto a la población sana. En nuestro estudio hemos observado que los resultados de grosor corneal central, del ápex y en el punto más fino no son estadísticamente significativos en ninguna de las tres ramas, por lo que no podemos afirmar que haya modificaciones en la paquimetría en el ojo seco debido a enfermedad injerto contra huésped.

Resultados similares hemos obtenido al comparar las **queratometrías** en la Rama 1,2 y 3, ya que nuestros resultados no han sido estadísticamente significativos. Podemos afirmar que no hemos encontrado alteraciones en la curvatura de la córnea anterior en pacientes tratados mediante TPH ni en pacientes EICH, permaneciendo las medias de curvatura dentro de los rangos de normalidad.

En relación a la detección de **linfocitos CD8** en conjuntiva mediante inmunohistoquímica; los resultados muestran que en la Rama 1, las muestras conjuntivales de 10 pacientes (20 muestras) fueron analizadas antes y después del trasplante; observando que en 13 de las muestras analizadas se detectaban linfocitos CD8 en conjuntiva, como señalizador de respuesta inflamatoria subclínica (5 pacientes de forma bilateral y 3 de forma unilateral). En la Rama 2 observamos que de los 14 pacientes EICH, 17 muestras presentan linfocitos CD8+ (8 pacientes de forma bilateral y 1 unilateral) en conjuntiva frente al 0% de los controles. En la Rama 3 podemos observar que en ambos grupos (TPH sin EICH y TPH con EICH) encontramos linfocitos CD8, siendo el número de pacientes con muestra positiva mayor en el grupo 2, por tener una actividad inflamatoria mayor. Al realizar el test de Fisher encontramos diferencias estadísticamente significativas en la Rama 1 y 2. Este hallazgo podría sugerir que independientemente a la presentación de EICH ocular, los pacientes presentan linfocitos CD8 + en la citología de impresión por el hecho de haber sido tratados mediante TPH y no encontramos diferencias por presentar clínica de la enfermedad. Esto podría servir como elemento screening de EICH ocular. Hasanain¹⁷ describió la fisiopatología de la enfermedad injerto contra huésped aguda, sin embargo, en el caso de la fase crónica (asociada a enfermedad ocular) el mecanismo no está claro. Nassar⁶ sugiere que la depleción de linfocitos reguladores puede estar implicada, mientras que en las publicaciones de Hasanain-Amparo [Hasanain-Amparo] abogan más por un mecanismo similar a enfermedades autoinmunes clásicas como en síndrome de Sjogren donde el problema es un mayor número de linfocitos T activados que provocan una cascada de marcadores inductores de fibrosis tisular. Eberwein¹²⁴ había descrito la presencia de linfocitos CD8+ en sujetos trasplantados que tenían enfermedad ocular activa, sin embargo no hay evidencia en la literatura de linfocitos CD8+ tras TPH

en asintomáticos. Nosotros, apoyados en las sugerencias de Eberwein¹²⁴ hemos querido demostrar la presencia de linfocitos T CD8+ en los pacientes trasplantados de precursores hematopoiéticos como marcador precoz de la respuesta inflamatoria, antes de que aparezcan los síntomas, tanto oculares como sistémicos. Dentro de nuestras limitaciones tenemos que asumir que, además de que la muestra en la Rama 1 era pequeña y que la actividad inflamatoria puede ser no solo debida al hecho de someterse a TPH sino que otros factores (como el tratamiento) podrían condicionarla. Es por ello que debemos continuar con el estudio de linfocitos CD8 conjuntivales e intentar hacer una correlación más fiable con el TPH. Sería interesante hacer también una correlación de la medición de linfocitos CD8 y la severidad de la afección ocular media en test de Schirmer o test de OSDI.

En resumen, en nuestra población estudiada se observan cambios estadísticamente significativos en test de OSDI, BUT test, escala de Oxford y detección de linfocitos CD8+ en pacientes sometidos a TPH sin EICH. Y que además, las variables OSDI, BUT y Oxford se ven más afectadas en pacientes sometidos a TPH que ya presentan EICH.

Limitaciones y sesgos del estudio

- La muestra de pacientes estudiados es pequeña, por comprender únicamente sujetos tratados mediante TPH en nuestro Hospital.
- Los pacientes del grupo 1 contienen mayor número de varones que de mujeres por lo que el sexo podría suponer un sesgo de confusión.
- Los pacientes del grupo 2 son pacientes con EICH ocular en el contexto de EICH crónica, por lo que hay un sesgo de selección ya que sólo son estudiados los sujetos que han superado EICH aguda.
- Existe un sesgo de información de los resultados obtenidos en cada prueba, ya que se ha demostrado una cierta variabilidad intraobservador en cada una de ellas.
- Los sujetos del grupo 1 y 2 son pacientes con diversas enfermedades hematológicas sometidos a TPH, por lo que hay un sesgo de confusión, ya que no sabemos qué variables pueden verse afectadas por la enfermedad hematológica y tratamiento pertinente en cuestión en lugar de al TPH.



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

CONCLUSIONES

1. No existen alteraciones en la superficie ocular de pacientes con enfermedad hematológica antes de ser trasplantados de precursores hematopoiéticos.
2. La enfermedad injerto contra huésped provoca alteraciones sintomáticas y mesurables en la superficie ocular.
3. El test de Schirmer no se ve influenciado por el hecho de tener enfermedad hematológica o haber sido sometido a un trasplante de precursores hematopoiéticos.
4. El test de Schirmer se ve disminuido en pacientes con EICH ocular.
5. La calidad visual medida mediante test de OSDI no se ve comprometida en pacientes con enfermedad hematológica antes de someterse a trasplante de precursores hematopoiéticos.
6. La calidad visual medida mediante test de OSDI se ve comprometida en pacientes tratados mediante trasplante de precursores hematopoiéticos, incluso antes de presentar EICH ocular.
7. No existe queratitis punctata en pacientes con enfermedad hematológica antes de someterse a trasplante de precursores hematopoiéticos.
8. Existe queratitis punctata medida mediante test de Oxford en sujetos trasplantados de precursores hematopoiéticos, incluso antes de presentar EICH ocular.
9. No se han detectado linfocitos CD8 en pacientes con enfermedad hematológica antes de ser tratados mediante trasplante de precursores hematopoiéticos.
10. Se han detectado linfocitos CD8 en pacientes tratados mediante trasplante de precursores hematopoiéticos y en pacientes con EICH ocular.

11. No existen cambios en la agudeza visual, paquimetría y queratometría de pacientes tratados mediante trasplante de precursores hematopoiéticos, presenten o no EICH ocular.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Madan H. Jagasia et al. National institutes of health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease. *Report Biol Blood Marrow Transplant*, (21):389–4019, 2015.
- [2] MPH Medi Eslani-MD Nekoo Panahi MD MPH Shiva Mehravaran MD MIH Alireza Ziaei MD Nari-man Nassiri, MD and MD Ali R. Djalilian. Ocular graft versus host disease following allogeneic stem cell transplantation: A review of current knowledge and recommendations. *J Ophthalmic Vis Res*, (4): 351–358, 1993.
- [3] Xihui Lin and Harrison Dwight Cavanagh. Ocular manifestations of graft-versus-host disease: 10 years experience. *Clin Ophthalmol*, (9):1209–1213, 2015.
- [4] Rebecca L. Siegel et al. Cancer statistics. *CANCER J CLIN*, (66):7–30, 2016.
- [5] Harish Raja-M.D. Cherie B. Nau O.D. Joanne F. Shen M.D. Saranya C. Balasubramaniam, M.D. and O.D Muriel M. Schornack. Ocular graft-versus-host disease: A review. *Eye and Contact Lens*, (5), 2015.
- [6] Ams Nassar. Khalid F. Tabbara. Mahmoud Aljurf. Ocular manifestations of graft versus host disease.. *Saudi J Ophthalmol*, (27):215–222, 2013.
- [7] Gale RP. Champling RE. Role of marrow transplantation in the treatment of hematologic malignancies and solid tumors. critical review of syngeneic autologous and allogeneic transplants. *Cancer Treat Rep*, (68):145–161, 1984.
- [8] Thomas DE and Storb R. The development of scientific foundation of hematopoietic stem cell transplantation based on animal and human studies. *Hematopoietic Cell Transplantation.*, (4):1–8, 1998.
- [9] D Weidsdorf. Gvhd the nuts and bolts. *Soc Hematol Educ Program*, (2):62–67, 2007.
- [10] Brent L. Billingham R. Quantitative studies on tissue transplantation immunity: induction of tolerance in newborn mice and studies on the phenomenon of runt disease. *Philos Trans R Soc Lond*, (4): 242–439, 1959.
- [11] Deeg HJ. Ferrara JL. Graft-versus-host disease. *N Engl J Med*, (10), 1999.
- [12] Antin JH. Ferrara JL. The pathophysiology of graft versus host disease in hematopoietic cell transplantation. *Oxford, UK, Wiley-Blackwell*, (2):5305–15, 1999.

- [13] Reddy P Ferrara JL, Levine JE. Graft versus host disease. *Lancet*.
- [14] Lyndsey Runaas John Magenau and Pavan Reddy. Advances in understanding the pathogenesis of graft-versushost disease. *Blood and Marrow Transplant Program, Division of Hematology/Oncology, Department of Internal Medicine, University of Michigan*, 2015.
- [15] Piantadosi S et al Akpek G, Zahurak ML. Development of a prognostic model for grading chronic graftversus-host disease. *Blood*, (97):1219–26, 2001.
- [16] Andrew C. Harris et al. Graft-versus-host disease clinical data collection: A report. *Biol Blood Marrow Transplant*, (22):4–10, 2016.
- [17] MD. Reza dana MsC Hasanain shikari, MD. Joseph H. Antin. Ocular graft-versus-host-disease. *Suervey of Ophthalmology*, (3), 2013.
- [18] Pavletic S et al. Filipovich AH, Weisdorf D. National institutes of health consensus development project on criteria for clinical trails in chronic graft-versus-host-disease. *Biol Blood marrow Trasplantat.*, (11):645–56, 2005.
- [19] Sally Arai et al. Allogeneic transplantation: A report from the center for international blood and marrow transplant research. *Biol Blood Marrow Transplant*, (21):266–274, 2015.
- [20] R Arora. Chronic gvhd risk score. a center for international blood and marrow trasplantation research analysis. *Blood*, (117):6714–20, 2011.
- [21] Storer B et al Bensinger WI, martin PJ. Trasplantation of bone marrow as compared with peripheral-blood cells from hla identical relatives in patientswith hemarologic cancers. *New Engl J Med*, (115): 925–30, 1991.
- [22] Song Y et al . Fang B, Li N. Cotrasplantation of haploidentical mesenchymal stem cells to enhance engraftment of hematopoietic stem cells and to reduce risk of graft failure in two children with severe aplasic anemia. *Pedratric trasplant.*, (13):499–502, 2009.
- [23] Shikari H; Antin JH; Dana R. Ocular graft versus host disease: a review. *Surv ophthalmol*, (3):233–251, 2013.
- [24] Cooke KR. Hill GR, Crawford JM. Total body irradiation and acute graft versus host disease. *Blood*, (90):3204–13, 1997.
- [25] Ferrara JL. Hill GR. The primacy of the gastrointestinal tract as a target organ of acute graft versus host disease. *Blood*, (95):2754–9, 2000.
- [26] Cooke KR et al. Hofmeister CC, Quinn A. Graft versus host disease of the skin. *Biol Blood Marrow Transplant*, (10):366–68, 2004.
- [27] Kim SK. Ocular graft versus host disease. *Ocular Surf*, (4):177–9, 2005.
- [28] Marijt WA et al. Falkenbur JH, Corput L. .minor histocompatibility antigens in human stem cell transplantation. *Exp Hematol*, (31):743–52, 2003.

- [29] Dustin ML. Role of adhesion molecules in activation signaling in t lymphocytes. *J Clin Immunol.*, (21): 258–63, 2001.
- [30] Bayer AL. Malek TR. Tolerance, not immunity crucially depends on il-2. *Nat Rev Immunol*, (4):465–74, 2004.
- [31] R Rojas B; Cuhna R; Zafirakis P; Ramirez JM; Lizan-Garcia M; Zhao T; Foste. Cell population and adhesion molecules expression in conjunctiva before and after bone marrow transplantation. *Exp Eye Res* 2005. Sep; 81 (3):313–25, (3):313–25, 2005.
- [32] Thiele DL Brown GR, Lee E. Tng-tnfr2 interactions are critical for the development of intestinal graft versus host disease in mhc class ii-disparat. *J Immunol*, (50):2610–20, 2002.
- [33] MD; Ujwala Saboo MD; Reza Dana MD MPH Hasanain Shikari, MD; francisco amparo. Onset of ocular graft versus host disease symptoms after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Cornea*, (34):243–247, 2015.
- [34]
- [35] Harris A et al. McMillan M, Robin M. refined risk score for agvhd that predicts response to initial therapy, survival and trm. *Biol Bool and Marrow transplant*, (21):761–9, 2015.
- [36] Bensen-Kennedy DM Vogesland GB, Lee L. Pathogenesis and treatment of graft versus host disease after bone marrow transplant. *Annu Rev Med*, (54):29–52, 2003.
- [37] Fisher L et al. Martin PJ, Schoch G. A retrospective analysis of therapy for acute graft versus host disease. *Blood*, (113):5074–82, 2009.
- [38] Boyer O Cooke KR. An experimental model of idiopathic pneumonia syndrome after bone marrow transplantation. *Blood*, (2):3230–9, 1996.
- [39] Furst D et al. High-resolution hla matching in hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective collaborative analysis. *Blood*, (18):3220–3229, 2013.
- [40] Karanes C et al. Nash R, Antin J. Phase 3 study comparing mtx and tacrolimus with mtx and cyclosporine for prophylaxis of acute graft versus host disease after marrow transplantation from unrelated donors.
- [41] Chakupurakai G et al Theurich S, Fischmann H. Atg for postransplant gvhd prophylaxis: a systematic review and meta-analysis. *Crit Rev Oncol Hematol*, (88):178–90, 2013.
- [42] Storer B et al. Mielcarek M, Furlong T. Effectiveness and safety of lower dose prednisone for initial treatment of agvhd: a randomized controlled trial. *Hematologica* 2015, (14), 1993.
- [43] Rodell TC et al. Hockenbery DM, Cruickshank S. A randomized, placebo-controlled trial of oral beclomethasone dipropionate as a prednisone-sparing therapy for gastrointestinal graft-versus-host disease. *Blood*, (10):4557–63, 2007.

- [44] Sánchez-Guijo F et al. Castilla C, Pérez-Simón JA. Oral beclomethasone dipropionate for the treatment of gastrointestinal acute graft-versus-host disease (gvhd). *Biol Blood Marrow Transplant.*, (9):936–41, 2006.
- [45] Walsh T et al. Srinivasan R, Chakravarti S. Improved survival in steroid refractory acute graft versus host disease after non-myeloablative allogeneic transplantation using a daclizumab-based strategy with comprehensive infection prophylaxis. *Br J Hematol*, (7):124–777, 2004.
- [46] Riemens A; Te Boome LC; Kailina Ayuso V; Kuiper JJ; Imhof SM; Lokhorst HM; Aniki R. Impact of ocular graft versus host disease on visual quality of life in patients after allogeneic stem cell trasnplantation: questionnaire study. *Acta Ophthalmol*, (1):82–87, 2014.
- [47] E. Holler. Risk assesment in hematopoietic stem cell trasplantation: Gvhd prevention and treatment. *Best Pract Res Clin Haematol.*, (20), 2007.
- [48] Scales CS; Johnson LJ. Long term clinical course of dry eye in patients with chronic graft versus host disease referred for eye examination. *Cornea*, (30):143–9, 2011.
- [49] Lokhorst H et al. Westeneng AC, Hettinga Y. Ocular graft versus host disease after allogeneic stem cell trasplantation. *Cornea*, (29):758–63, 2010.
- [50] Castier P et al. Janin A, Facon T. Pseudomembranus conjunctivitis following bone marrow trasplantation: immunopathological and ultraestructural study of one case. *Hum Pathol*, (27):307–9, 1996.
- [51] Sale GE et al. Jack MK, Jack GM. Ocular manifestations of graft versus host disease.
- [52] Green WR. Jabs DA, Wingard J. The eye in bone marrow trasplantation. conjuntival graft versus host disease. *Arch ophthalmol*.
- [53] Proctor SJ. Bray LC, Carey PJ. Ocular complications of bone marrow trasplantation. *Br J Ophthalmol.*, (75):611–4, 1991.
- [54] Ogawa Y; Kuwana M. Dry eye as a major complication associated with chronic graft versus host disease after hematopoietic stem cell trasplantation. *Cornea*, (7):19–27, 2003.
- [55] Kugawa M. Ogawa Y, Yamazaki K. A significant role of stromal fibroblasts in rapidly progressive dry eye in patients with chronic gvhd. *Invest ophthalmol Vis sci.*, (42):111–9, 2001.
- [56] Wang Y; Ogawa Y; Dogru M; tatematsu Y; uchino M; Kamoi M; Okada N; Okamoto S; Tsubota K. Baseline profiles of ocular surface and tear dynamics after allogeneic hematopoietic stem cell trasplantation in patients with or without chronic gvhd-related dry eye. *Bone marrow trasplant*, (6):1077–1083, 2010.
- [57] Gama I; Rodrigues W; Franco J; Almeida L; Monteiro-Grillo M. Chronic ocular graft versus hist disease as a serious complication of allogeneic hematopoietic stem cell trasplantation: case report. *Trasplant Proc*, (4):1059–62, 2015.
- [58] Dietrich-Ntoukas T; Steven P. Ocular graft-versus-host disease. *Ophthalmologe*, (12):1027–40, 2015.

- [59] Weiss M, Tichelli A, Duell T. Late-onset keratoconjunctivitis sicca síndrome after bone marrow transplantation: incidence and risk factors. *Bone marrow Trasplant.*, (17):1105–11, 1996.
- [60] Grabner G et al. Arock-mettinger E, Skorpik F. Manifestations of graft versus host disease following allogenic bone marrow transplantation. *Eur J Ophthalmol.*, (1):28–32, 1991.
- [61] NG Strouthidis; PJ Francis. Posterior complications of graft versus host disease after bone marrow transplantation. *BMJ*, (11):1421–1423, 2003.
- [62] Tutschka PJ et al. Franklin RM, Keynon KR. Ocular manifestations of graft versus host disease. *Ophthalmology.*, (90):4–13, 1993.
- [63] Pedersen JS. West RH, Szer J. Ocular surface and lagrimal disturbances in chronic graft-versus-host disease: the role of conjuntival biopsy. *J Ophthalmol.*, (19):187–91, 1991.
- [64] Allan EJ; Flowers ME; Lin MP; Bensinger RE; Martin PJ; Wu MC. Visual acuity and anterior segment findings in chronic graft-versus-host disease. *Cornea*, (30):1392–7, 2011.
- [65] Tutschka PJ et al. Hirst LW, Jabs DA. The eye in bone marrow transplantation. *Arch Ophthalmol.*, (101):580–4, 1983.
- [66] Maurice DM. Egbert PR, Lauber S. A simple conjunctival biopsy. *Am J Ophthalmol.*, (81):798–801, 1977.
- [67] Rivas L. Murube J. Ojo seco: clasificación clínica y por citología de impresión. *Arch Soc Canar Oftalmol.*, (13), 2002.
- [68] Auw-Haedrich C; Postch C; Bohringer D; Mittelviefhaus H; Maier P; Reinhard T; Freudenberg N; Finke J; Coupland SE. Histological and immunohistochemical characterisation of conjunctival graft versus host disease following hematopoietic stem cell transplantation. *Graefes Arch Clin Exp ophthalmol.*, (7):1001–7, 2007.
- [69] Wright JC Nelson JD. Conjunctival goblet cell densities in ocular surface disease. *Arch ophthalmol.*, (87):1049–51, 1984.
- [70] Becquet F Philip PJ. Baudouin C; Brignole F; Pisella PJ. Immunophenotyping of human dendriform cells from the conjunctival epithelium.
- [71] Katz LJ Steinmann WN Spaeth GL. Brandt JD, Wittpenn JR. Conjunctival impression cytology in patients with glaucoma using long-term topical medication. *Am Ophthalmol.*, (3):297–301, 1991.
- [72] J. Dart. Impression cytology of the ocular surface-research tool of routine clinical investigation. *Br J Ophthalmol.*, (11):930–41, 1997.
- [73] Montard M. Deschamps F, Royer J. First results of conjunctival impression. *Bull Soc Ophthalmol Fr.*, (12):1515–7, 1982.
- [74] Blarzino MC. Midená E, Segato T. Effects of ionizing radiation of human conjunctival epithelial cells: a clinical and cytology study. *Ophthalmologica.*, (3):75–81, 1991.

- [75] Freddo TF, Krenzer KL. Cytokeratin expression in normal bulbar conjunctiva obtained by impression cytology. *Invest ophthalmol Vis Sci.*, (1):142–52, 1997.
- [76] Tsukahara S, Yamabayashi S. Histochemical studies of conjunctival goblet cells. *Ophthalmic Res*, (3): 137–40, 1987.
- [77] Ralph RA. Conjunctival goblet cell density in normal subjects and in any dry eye síndromes. *Vis Sci*, (4):299–302, 1975.
- [78] Ucakhan OO, Adar S, Kanpolat A, Surucu S. Conjunctival impression citology in patients wearing contact lenses. *Cornea*, 1997.
- [79] Diez-campelo M, Martino R et al. Perez RL, perez-simon JA. Limbus damage in ocular graft versus host disease. *The name of the journal*, (17):270–3, 2011.
- [80] Smith JA, Bron AJ, Evans VE. Grading of corneal and conjunctival staining in the context of other dry eye tests. *Cornea*, (22):640–650, 2000.
- [81] E. Viso Outeiriño. Prevalencia del ojo seco en el área sanitaria de o salnés. *Universidad de Santiago de Compostela*, 2008.
- [82] Lemp MA. Report of the national eye institute/industry workshop on clinical trials in dry eyes. *CLAO J.*, (21):221–232, 1995.
- [83] Nally LA-Welch D, Krenzer K, Abelson M, Ousler GW. Alternate reference values for tear film breakup time in normal and dry eye populations. *Adv Exp Med Biol*, (506):1121–5, 2002.
- [84] Yoshihiro Inamoto et al. Validation of measurement scales in ocular graft-versus-host disease. *Ophthalmology*, (3):487–493, 2012.
- [85] Saboo US, Amparo F, Abud TB, Schaumberg DA, Dana R. Vision related quality of lifer in patients with ocular graft versus host disease. *Ophthalmology*, (8):1669–74, 2015.
- [86] M Johnson. Ocular graft versus host disease after allogenic trasplantation. *Clin J Oncol Nurs*, (6): 621–6, 2013.
- [87] Pflugfelder SC, Stern ME, Calonge M. Conceptos actuales en la fisiopatología del síndrome de ojo seco: papel de la unidad funcional lagrimal. *Ponencia de la Sociedad Española de Oftalmología.*, 2004.
- [88] Tok L, Tok O, Gunas A, Inal EE. Evaluation of central and peripheral corneal thickness in patients with rheumatoid arthritis. *Arg Bras Oftalmol.*, (78):236–40, 2015.
- [89] Turkcu FM, Sahin M, Kaya S, bozkurt M, Sahin A, Yuksel H, Ari S, Çaça I, Cingu AK, Cinar Y. Evaluations of corneal parameters with scheimpflug imaging in patients with rheumatoid arthritis. *Ocul Immunol Inflamm.*, pages 260–5, 2013.
- [90] Wegener AR, Meyer LM, Kronschlager M. Scheimpflug tomography detects alterations in corneal density and thickness in patients with dry eye disease. *Ophthalmologe.*, (19):914–9, 2014.

- [91] Janine Clayton; Sandeep Jain; Mark. I. Rosenblatt; Victor L. Perez; Hasananin Shikari; Anjo Riemens; Kazuo Tsubota Yoko Ogawa. Stella K. Kim; Reza Dana. International chronic ocular graft-vs-host disease (gvhd) consensus group: proposed diagnostic criteria for chronic gvhd. *Sci Rep*, (3):419–428, 2013.
- [92] Dana MR. Balaram M, Schaumberg DA. Ghronic ocular surface disease after allogenic bone marrow transplantation. *Ocul Surf.*, (3):203–11, 2005.
- [93] Glavin S. Doughty MJ. Efficacy of different dry eye treatments with artificial tears or ocular lubricants; a systematic review. *Ophthalmic Physiol Opt.*, (29):573–83, 2009.
- [94] Manejo y tratamiento de la enfermedad de ojo seco: informe del subcomité para manejo y tratamiento del taller internacional sobre ojo. (2):163–178, 2007.
- [95] Baudouin C Goto E Matsumoto Y O'Brien T Rolando M Tsubota K Nichols KK. Geerling G, Tauber J. The international workshop on meibomian glands dysfunction: report of the subcommittee on management and treatment of meibomian gland dysfunction. *Special issue*, (4), 2011.
- [96] Dana MR. Balaram M, Schaumberg DA. Efficacy and tolerability outcomes after punctal occlusion with silicone plugs in dry eye syndrome. *Am J ophthalmol.*, (6):131–36, 2001.
- [97] Kamoi M et al. Yaguchi S, Ogawa Y. Surgical management if lacrimal punctal cauterization in chronic gvhd.related dry eye with recurrent plug extrusión. *Bone Marrow Trasplant.*, (11):1465–9, 2012.
- [98] borrás Blasco J Almiñana Almiñana A Pérez Ramos JM. Alvarado Valero MC, Martínez Toldos JJ. Tratamiento de defectos epiteliales persistentes mediante suero autólogo. *Arch Soc esp Oftalmol.*, (79):537–542, 2004.
- [99] Rivas L Martínez Garchitorena J. Lopez-García JS, García Lozano I. Aplicaciones del suero autólogo en oftalmología. *Arch Soc Esp Oftalmol*, (82), 2007.
- [100] Tauber J et al. Barber LD, Plugfelder SC. Phase iii safety evaluation of cyclosporine 0.1 % ophthalmic emulsion administered twice daily to dry eye disease patients for up to 3 years. *Ophthalmology.*, (112):1790–4, 2005.
- [101] Reis BL. Stevenson D, tauber J. The cyclosporine a phase 2 study group efficacy and safety os cyclosporine a ophthalmic emulsion in the treatment od moderate-severe dry eye disease. *Ophthalmology*, (107):867–74, 2000.
- [102] Dana R Dastjerdi MH, Hamrah P. High-frequency topical cyclosporine 0.05 % in the treatment of severe dry eye reactory to twice daily régimen. *Cornea*, (28):1091–6, 2009.
- [103] Shtein RM et al. Malta JB, Soong HK. Treatment of ocular graft-versus-host disease with topical cyclosporine 0.05. *Cornea*, (29):1392–6, 2010.
- [104] Gilger BC et al. Kim H, Csaky KG. Preclinical evaluation of a novel episcleral ciclosporine implant for ocular graft-versus-host disease. *Invest ophthalmol Vis Sci.*, (46):665–62, 2005.

- [105] Fahy G et al. Murphy PT, Sivakumaran M. Successful use of topical retinoic acid in severe dry eye due to chronic graft-versus-host disease. *Bone Marrow transplant.*, (18):641–2, 1996.
- [106] Ghosh S et al. Kim SK, Couriel D. Ocular graft versus host disease experience from md anderson cancer center: Newly described clinical spectrum and new approach to the management of stage iii and iv ocular graft versus host disease. *Biol blood marrow transplant.*, (12):49–50, 2006.
- [107] Rubin BI et al. Robinson MR, Lee SS. Topical corticosteroids therapy for cicatricial conjunctivitis associated with chronic graft-versus-host disease. *Bone marrow Transplant.*, (33):1031–5, 2004.
- [108] Dastjerdi MH et al. Okanobo A, Chauhan SL. Efficacy of topical blockade of interleukin-1 in experimental dry eye disease. *Am J Ophthalmol.*, (1):63–71, 2012.
- [109] Liu Z et al. Solomon A, Dursun D. Pro and antiinflammatory forms of interleukin-1 in the tear fluid and conjunctiva of patients with dry eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci.*, (42):2283–92, 2001.
- [110] Miyata S et al. Kino T, Hatanaka H. FK506, a novel immunosuppressant isolated from a streptomyces. *J Antibiot.*, (40):1256–65, 1987.
- [111] Minamoto A et al. Aoki S, Mizote H. Systemic FK506 improved tear secretion in dry eye associated with chronic graft versus host disease. *Br J Ophthalmol.*, (89):243–4, 2005.
- [112] Kakimaru-Hasegawa A, Nagata Y, Hasegawa J, Inoue Y, Miyazaki D, Toinaga T. Therapeutic effects of tacrolimus ointment for refractory ocular surface inflammatory diseases. *Ophthalmology.*, (107):967–74, 2000.
- [113] Mori T et al. Ogawa Y, Okamoto S. Autologous serum eye drops for the treatment of severe dry eye in patients with chronic graft-versus-host-disease. *Bone Marrow Transplantation.*, (31):579–83, 2003.
- [114] Im SK et al. Yoon KC, Jeong IY. Therapeutic effect of umbilical cord serum eyedrops for the treatment of dry eye associated with graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant.*, (39):231–5, 2007.
- [115] Galasso JM, Russo PA, Bouchard CS. Extended-wear silicone hydrogel soft contact lenses in the management of moderate to severe dry eye signs and symptoms secondary to graft versus host disease. *Eye Contact Lens.*, (33):144–7, 2007.
- [116] Patel SV et al. Schornack MM, Baratz KH. Jupiter scleral lenses in the management of chronic graft versus host disease. *Eye Contact lens.*, (34):302–5, 2008.
- [117] Rosenthal P, Jacobs DS. Boston scleral lens prosthetic device for treatment of severe dry eye in chronic graft-versus-host disease. *Cornea.*, (26):1195–9, 2007.
- [118] Wu M et al. Takahide K, Parjer PM. Use of fluid-ventilated-gas-permeable scleral lens for management of severe keratoconjunctivitis sicca secondary to chronic graft versus host disease. *Biol Blood Marrow Transplant.*, (13):1016–21, 2007.
- [119] Tseng SC, Kenyon KR. Limbal autograft transplantation for ocular surface disorders. *Ophthalmology.*, (96):709–722, 1989.

- [120] Hwang DG Kim WS Zhang F Hao Y, Ma DH-K. Identification of antiangiogenic and inflammatory proteins in human amniotic membrane. *Cornea*, (19):348–52, 2000.
- [121] Schulenburg WE. Heath JD, Acheson JF. Penetrating keratoplasty in severe ocular graft versus host disease. *Br J Ophthalmol.*, (77):525–6, 1993.
- [122] Diaz-Llopis M et al. Peris Martínez C, Menezo JL. Multilayer amniotic membrane trasplantation in severe ocular graft versus host disease. *Eur J ophthalmol.*, (15):1415–21, 2001.
- [123] Cook SD. Smith VA. Doxycycline-role in ocular surface repair. *Br J Ophthalmol.*, (88):619–25, 2004.
- [124] Thomas Reinhasr Phillipp Eberwein, Susanne Issleib. Conjuctival hla-dr and cd8 expression detected by impression cytology in ocular host versus graft disease. *Mol Vis*, (19):1492–1501, 2013.